

**Elektronenmikroskopische Untersuchungen
zur Differenzierung männlicher Keimzellen
des Rindes**

Klaus-Dieter Lengfelder

1970

Aus dem Institut für Tieranatomie
Lehrstuhl für Histologie und Embryologie
des Fachbereichs Tiermedizin der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. P. Walter

ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN
ZUR DIFFERENZIERUNG MÄNNLICHER KEIMZELLEN
DES RINDES

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Klaus-Dieter Lengfelder
aus
Stuttgart

München 1978



Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Tiermedizin
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Kräußlich
Referent: Prof. Dr. P. Walter
Korreferent: Prof. Dr. W. Leidl

Tag der Promotion: 24. Februar 1978

MEINEN ELTERN IN DANKBARKEIT



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549006_0072

INHALT

SEITE

1.	<u>EINFÜHRUNG</u>	1
1.1.	<u>Kinetik der Spermatogenese</u>	1
1.1.1.	Prinzipieller Ablauf der Spermatogenese.....	1
1.1.2.	Vermehrung und Einteilung der Spermatogonien.....	2
1.1.3.	Stadien und Phasen der Spermatohistogenese.....	4
1.1.4.	Keimepithelzyklus und Spermatogenesewelle.....	4
1.2.	<u>Morphologie der Spermatogenesezellen</u>	7
1.2.1.	Spermatogonien.....	7
1.2.2.	Primäre Spermatozyten.....	8
1.2.3.	Sekundäre Spermatozyten.....	10
1.2.4.	Spermatiden.....	10
2.	<u>MATERIAL UND METHODEN</u>	13
3.	<u>BEFUNDE</u>	15
3.1.	<u>Einteilung der Phasen des Keimepithelzyklus</u>	15
3.2.	<u>Ultrastruktur der verschiedenen Phasen des Keimepithelzyklus</u>	16
3.3.	<u>Ultrastrukturelle Befunde zur Spermatogenese</u>	26
3.3.1.	Spermatogonien.....	26
3.3.2.	Primäre Spermatozyten.....	30
3.3.3.	Sekundäre Spermatozyten.....	40
3.4.	<u>Ultrastrukturelle Befunde zur Spermatohistogenese</u>	43
3.4.1.	Spermatiden der Golgi-Phase.....	43
3.4.2.	Spermatiden der Kappen-Phase.....	49
3.4.3.	Spermatiden der Akrosom-Phase.....	51
3.4.4.	Spermatiden der Reifungs-Phase.....	57

4.	<u>DISKUSSION</u>	60
4.1.	<u>Einteilung der Phasen des Keimepithelzyklus</u>	60
4.2.	<u>Spermatogenese</u>	61
4.2.1.	Spermatogonien.....	61
4.2.2.	Spermatozyten.....	64
4.3.	<u>Spermatohistogenese</u>	68
4.3.1.	Akrosomenentwicklung.....	69
4.3.2.	Chromatinkondensation.....	70
4.3.3.	Formveränderung des Kerns und Bedeutung der Manschette.....	72
4.3.4.	Verbindungsstück und Zentriolaranhang.....	74
4.4.	<u>Chromatoid-Körper</u>	77
4.5.	<u>Multivesikuläre Körper</u>	81
5.	<u>ZUSAMMENFASSUNG - SUMMARY</u>	84
6.	<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	88
7.	<u>BILDANHANG</u>	108

1. EINFÜHRUNG

1.1. Kinetik der Spermatogenese

1.1.1. Prinzipieller Ablauf der Spermatogenese

Spermatogenese (Syn. Spermiogenese) ist der übergeordnete Begriff für die verschiedenen Differenzierungsvorgänge, die in den Tubuli seminiferi der Hoden geschlechtsreifer Tiere ablaufen, mit dem Ziel der Bildung männlicher Germinativzellen. Die Spermatogenese beginnt mit der Vermehrung der Stammspermatogonien und endet mit der Abgabe strukturell ausdifferenzierter Spermien in das Tubuluslumen.

Ein Teilabschnitt der Spermatogenese ist die Spermatohistogenese (Syn. Spermioghistogenese, Spermiozytogenese, Spermiogenese). Mit diesem Begriff werden die Reifungs- und Umgestaltungsprozesse der Spermatiden zum Spermium bezeichnet.

Der Spermatogenese geht die Präspertmatogenese voraus. Hierunter versteht man die Proliferation und Evolution unreifer Geschlechtszellen, der Gonozyten, die als Vorstufen der Stammspermatogonien angesehen werden (HILSCHER 1974).

Die Spermatogenese beginnt mit der Teilung der Stammspermatogonien. Während die eine Tochterzelle als neue Stammspermatogonie in Ruhe verbleibt, teilt sich die andere mehrmals mitotisch, wobei sie sich mit jeder Teilung weiter differenziert und mit Abschluß dieser Vermehrungsperiode primäre Spermatozyten (Syn. Spermatozyten 1. Ordnung) bildet. Diese durchlaufen anschließend die erste Reifeteilung.

Aus dieser ersten Reifeteilung gehen sekundäre Spermatozyten (Syn. Spermatozyten 2.Ordnung) hervor, welche sich unmittelbar nach ihrer Entstehung in einer zweiten Reifeteilung erneut teilen und Spermatischen (Syn. Spermiden) bilden. Von den beiden Reifeteilungen läuft die erste als Reduktionsteilung (Meiose I), die zweite als Äquationsteilung (Meiose II) ab. Infolge der Reduktionsteilung besitzen die sekundären Spermatozyten und die Spermatiden den für

Germinativzellen typischen haploiden Chromosomensatz.

Die Spermatiden unterliegen keinen weiteren Teilungen, sondern wandeln sich während der anschließenden Spermiohistogenese in Spermien um. Diese Periode ist gekennzeichnet durch eine völlige Formveränderung der Zelle sowie der Entwicklung des Akrosoms und des Bewegungsorganells.

1.1.2. Vermehrung und Einteilung der Spermatogonien

In den Tubuli seminiferi liegende Stammspermatogonien können sich einerseits selbst reproduzieren, andererseits bilden sich aber auch differenzierte Spermatogonien, die ihrerseits die Ausgangszellen für die Spermatogenese darstellen (ROOSEN-RUNGE 1962, WASCHKE 1971). Dieser Vorgang wird auch als Spermatogonienvermehrungszyklus bezeichnet (LEIDL 1968).

Die Spermatogonienvermehrung verläuft tierartlich unterschiedlich, aber auch für das Rind wurden verschiedene Modelle aufgestellt (ORTRAVANT 1959, AMANN 1962, HOCHEREAU DE REVIERS 1970).

Nach ORTRAVANT (1959) teilt sich die als A_1 bezeichnete Stammspermatogonie in eine A_2 -Spermatogonie und eine A_1 -Spermatogonie, die als neue Stammzelle zunächst keinen weiteren Teilungen unterliegt. Die A_2 -Spermatogonie teilt sich in 2 I-(=Intermediär)Spermatogonien, diese wiederum in je 2 B_1 -Spermatogonien, die nach einer weiteren Teilung insgesamt 8 B_2 -Spermatogonien bilden. Aus den B_2 -Spermatogonien gehen nach einer erneuten mitotischen Teilung 16 primäre Spermatozyten hervor. Die nach der ersten Teilung in Ruhe verharrende Stammspermatogonie beginnt sich zu diesem Zeitpunkt erneut zu teilen und setzt damit einen neuen Spermatogonienvermehrungszyklus in Gang.

Nach AMANN (1962) teilt sich die A_1 - oder Stammspermatogonie zunächst in 2 A_2 -Spermatogonien. Aus der einen dieser A_2 -Spermatogonien werden bei der folgenden Vermehrung 2 I-Spermatogonien, 4 B_1 -Spermatogonien, dann 8 B_2 -Spermatogonien und schließlich 16 primäre Spermatozyten. Zum Zeitpunkt der Entstehung der

I-Spermatogonien teilt sich die andere A_2 -Spermatogonie in eine neue A_1 -Spermatogonie und eine weitere A_2 -Spermatogonie, die den zuvor beschriebenen Vermehrungszyklus durchläuft. Hierdurch soll es im weiteren Verlauf zu einer halbphasenlangen zeitlichen Verschiebung in der Bildung der primären Spermatozyten kommen (LEIDL 1968). Die Reifeteilungen der Spermatozyten und die Spermiogenese soll dagegen wieder synchron ablaufen (WASCHKE 1971).

Ein weiteres Modell der Spermatogonienvermehrung beim Rind stellt HOCHEREAU DE REVIERS (1970) auf.

Ihrer Ansicht nach teilt sich die A_1 - oder Stammspermatogonie in 2 A_2 -Spermatogonien. Aus einer dieser A_2 -Spermatogonien entstehen nach erneuter Teilung wieder 2 A_1 -Spermatogonien, die als neue Stammzellen zunächst in Ruhe bleiben. Die andere A_2 -Spermatogonie teilt sich in 2 A_3 -Spermatogonien. Während eine dieser A_3 -Spermatogonien der Degeneration verfällt, entstehen aus der anderen durch weitere mitotische Teilungen Spermatogonien des Typs I, B_1 und B_2 , aus denen schließlich die primären Spermatozyten hervorgehen. Zu diesem Zeitpunkt beginnen die neu gebildeten A_1 -Spermatogonien einen weiteren Spermatogonienvermehrungszyklus (nach WASCHKE 1971).

Neben den genannten Spermatogonientypen soll nach HOCHEREAU DE REVIERS (1970) noch ein Typ A_0 vorliegen. Dieser Typ, der etwa 15% der Gesamtspermatogonienzahl ausmacht, soll als Spermatogonienreserve dienen, und sich lediglich im Bedarfsfall in eine neue A_0 - und eine A_1 -Spermatogonie teilen, die dann wiederum als Stammspermatogonie dient.

Zusammenfassend kann man demnach feststellen, daß die Vorstellungen über den Modus der Spermatogonienvermehrung und die Anzahl der Spermatogonientypen voneinander abweichen. Die Modelle von ORTRAVANT (1959) und AMANN (1962) unterscheiden sich zwar bezüglich ihrer Kinetik, beide Untersucher nehmen aber die Existenz von 5 Spermatogonientypen an, nämlich A_1 , A_2 , I, B_1 und B_2 . Demgegenüber glaubt HOCHEREAU DE REVIERS (1970) an die Existenz von 7 Spermatogonientypen: A_0 , A_1 , A_2 , A_3 , I, B_1 und B_2 .

1.1.3. Stadien und Phasen der Spermatohistogenese

Als Spermatohistogenese bezeichnet man die letzte Phase der testikulären Spermienentwicklung. Es handelt sich dabei um die Transformation kugeliger, teilungs- und bewegungsunfähiger Spermatiden in Spermien mit arttypischer Form und Struktur (BERCHTHOLD 1963).

Durch die Anwendung der "periodic acid Schiff technic" (CLERMONT und LEBLOND 1955) war es möglich, die Strukturumwandlungen der Spermatiden zu erkennen und die Spermatohistogenese in verschiedene Differenzierungsstadien einzuteilen.

Beim Rind fanden CLERMONT und LEBLOND (1955) 15 Stadien der Spermatohistogenese, während KRAMER (1960) und KRAMER, et al (1964) diesen Vorgang in 16 Stadien unterteilten. In einer neueren Arbeit postulierten BERNDSTON und DESJARDINS (1974) 14 Stadien. In allen Fällen beruhen die Untersuchungskriterien auf Unterschieden in Form und Färbbarkeit der PAS-positiven Zellsubstanzen während der Akrosomentwicklung, der fortschreitenden Kondensation des Chromatins und der Entwicklung des Bewegungsorganells.

Die Stadien der Spermatohistogenese ihrerseits werden wieder zu 4 Phasen zusammengefaßt (CLERMONT und LEBLOND 1955, TIBA 1965, HILSCHER 1974), der Golgi-, Kappen-, Akrosom- und Reifungs-Phase.

Die Spermatohistogenese ist damit beendet, daß die Spermien den Tubuluszellverband verlassen und in das Lumen abgegeben werden.

1.1.4. Keimepithelzyklus und Spermatogenesewelle

Eines der auffälligsten Merkmale der Spermatogenese des Rindes ist die strenge Regelung und zeitliche Synchronisation der Teilungs- und Umbildungsvorgänge (LEIDL 1968). Die Zellen einer Generation entstehen etwa gleichzeitig und entwickeln sich auch synchron weiter (BERCHTHOLD 1963). Dabei bestehen zwischen den Entwicklungsstufen der verschiedenen Generationen gesetzmäßige Beziehungen, so daß im histologischen Bild ganz bestimmte, charakteristische Zellassoziationen entstehen (PEREY, et al 1961).

Diese morphologisch definierbaren Zustandsbilder bezeichnet man als Phasen des Keimepithelzyklus. Danach versteht man unter dem Keimepithelzyklus den vollständigen Ablauf einer solchen Serie von typischen Zellbildern an einer bestimmten Stelle eines Hodenkanälchens (BERCHTHOLD 1963). LEIDL (1968) nennt das steuernde Prinzip dieser zeitlichen Abstimmung "Synchronisation" der Spermatogenese.

Die Phasen des Keimepithelzyklus können auf Grund morphologischer Kriterien unterschieden werden. Hierbei wird von den verschiedenen Untersuchern in der Regel die Differenzierung der Entwicklungsstufen der Spermatiden herangezogen. Die Begrenzung der Phasen ist dabei weitgehend subjektiv. Demzufolge wird der Keimepithelzyklus von den einzelnen Autoren unterschiedlich aufgeteilt. TIBA (1965) unterscheidet fünf, ORTRAVANT (1959), AMANN (1962), BERCHTHOLD (1963) und LEIDL (1968) acht, BERNDSTON und DESJARDINS (1974) zwölf und KRAMER (1960) sechzehn verschiedene Phasen im Keimepithelzyklus des Rindes.

Auch der Beginn des Keimepithelzyklus wird unterschiedlich festgelegt. ORTRAVANT (1959), KRAMER (1960) und AMANN (1962) bezeichnen das Bild, das sich nach der Abstoßung der reifen Spermien in das Tubuluslumen zeigt, als Phase 1, während LEBLOND und CLERMONT (1952), CLERMONT (1963), BERCHTHOLD (1963) und LEIDL (1968) den Beginn des Keimepithelzyklus nach der zweiten meiotischen Teilung sehen, wenn neue Spermatiden gebildet worden sind.

Im Zuge der Untersuchungen über die Steuerung der Spermatogenese postulierte LEIDL (1968) zwei weitere Faktoren, die neben anderen Tierarten auch beim Rind zum Tragen kommen.

Im histologischen Bild findet man beim Rind in einem Tubulusquerschnitt in der Regel nur eine Phase des Keimepithelzyklus. Da die Abkömmlinge einer Stammspermatogonie, jedoch nicht die ganze Tubuluswand besetzen können, müssen mehrere Stammspermatogonien gleichzeitig den Spermatogenesezyklus beginnen. Die Steuerung dieses Prozesses bezeichnet LEIDL (1968) als "Koordination 1".

Die den Phasen des Keimepithelzyklus entsprechenden Zellassoziationen im Längsschnitt des Tubulus bezeichnet man als Segmente (LEIDL 1968, LEIDL und WASCHKE 1970, WASCHKE 1971). Abgesehen von "Modulationen" und "Übersprüngen" sind beim Rind die Segmente so geordnet, daß einem bestimmten Segment immer das in der Entwicklung nächst höhere folgt. Für diese Regelung des Ablaufes der Spermatogenesewelle ist nach LEIDL (1968) der "Koordinationsfaktor 2" verantwortlich.

1.2. Morphologie der Spermatogenesezellen

Die verschiedenen Entwicklungsstadien der männlichen Germinativzellen sind lichtmikroskopisch weitgehend geklärt und für das Rind von ORTRAVANT (1959), AMANN (1962), BERCHTHOLD (1963), KRAMER (1960), KRAMER, et al (1964) und BERNDSTON und DESJARDINS (1974) beschrieben worden.

1.2.1. Spermatogonien

Man unterscheidet heute grundsätzlich drei verschiedene Typen von Spermatogonien, A-, I- und B-Spermatogonien, die sich durch ihre Struktur, ihre Lage im Samenkanälchen und die Art ihrer Teilung voneinander abgrenzen lassen (ORTRAVANT 1959, KNUDSEN und BRYNE 1960, BERCHTHOLD 1963, KRAMER 1964).

Während die A-Spermatogonien in allen Phasen des Keimepithelzyklus zu finden sind, trifft man nach BERCHTHOLD (1963) und LEIDL (1968) I- oder Intermediär-Spermatogonien nur in Phase 1, 2 und 8, B₁-Spermatogonien nur in Phase 3 und B₂-Spermatogonien nur in Phase 4 an. Dabei werden die relativ chromatinarmen Kerne der A-Spermatogonien von Teilungsschritt zu Teilungsschritt immer chromatinreicher, so daß das Chromatin schließlich bei den I-, und noch ausgeprägter bei den B-Spermatogonien in Form kleiner Klümpchen an der Kernmembran und um den Nukleolus gelagert ist (HILSCHER 1974).

A-Spermatogonien lassen sich darüber hinaus durch ihre Lage und Struktur charakterisieren. Es handelt sich hierbei um ca. 13 µm große Zellen, die immer eng der Basalmembran des Samenkanälchens anliegen. Der Kern ist ellipsoid, wobei seine Längsachse parallel zur Basalmembran orientiert ist. Der Längsdurchmesser des Kerns beträgt ca. 7 - 8 µm. Das Chromatin ist fein verteilt, wodurch der Kern ein schaumiges Aussehen erhält. Chromatinkörperchen treten nicht auf. Im Kernzentrum findet man immer einen großen, stark anfärbbaren Nukleolus, in manchen Fällen auch zwei oder drei. Die großen Mitochondrien sind gleichmäßig über das Zytoplasma verteilt, der Golgi-Apparat liegt in der Nähe des Kerns, nicht selten in dem

schmalen Raum zwischen Kern und Basalmembran. Bei der Teilung liegt die Spindelachse parallel zur Tubuluswand, so daß die Tochterzellen wieder der Basalmembran anliegen (BERCHTHOLD 1963, KRAMER, et al 1964, BERNDSTON und DESJARDINS 1974).

I-Spermatogonien unterscheiden sich von den vorher beschriebenen durch ihren geringfügig kleineren und dichteren Kern. Das Chromatin ist grobkörniger und Chromatinkörperchen legen sich dem Nukleolus und der Kernmembran an (BERCHTHOLD 1963, KRAMER, et al 1964, BERNDSTON und DESJARDINS 1974).

Bemerkenswert ist, daß A-Spermatogonien in der frühen Prophase der Mitose ein ähnliches Aussehen annehmen können wie I-Spermatogonien, weshalb sie dann lichtmikroskopisch von diesen nur schwer abzugrenzen sind (KRAMER, et al 1964).

B-Spermatogonien haben im Gegensatz zu A- und I-Spermatogonien nur noch geringen Kontakt zur Basalmembran. Dies beruht darauf, daß bei der Teilung die Spindelachse unabhängig von der Richtung der Tubuluswand verläuft.

Der Kern ist rund oder nur schwach ellipsoid. Der Kerndurchmesser beträgt bei B_1 -Spermatogonien $8\text{ }\mu\text{m}$, bei B_2 -Spermatogonien ist er etwas kleiner. Es kommt zu einer weiteren Zunahme der Chromatinkörperchen, die insbesondere bei B_2 -Spermatogonien entlang der inneren Kernmembranoberfläche zu liegen kommen und zu einer krustenartigen Verdickung führen. Der Nukleolus ist unschärfer begrenzt als bei den vorhergehenden Stadien (KNUDSEN und BRYNE 1960, BERCHTHOLD 1963, KRAMER, et al 1964, BERNDSTON und DESJARDINS 1974).

1.2.2. Primäre Spermatozyten

Die primären Spermatozyten entstehen durch mitotische Teilung der B_2 -Spermatogonien. Da die meiotische Prophase einen Zeitraum von ca. 20 Tagen beansprucht, findet man primäre Spermatozyten in allen Phasen des Keimepithelzyklus.

In den frühen Stadien der Prophase liegen die primären Spermatozyten als kontinuierlicher Gürtel zwischen Spermatogonien und Sertolizellen nahe der Basalmembran. In den späteren Stadien der Prophase findet man sie näher am Tubuluslumen (BERCHTHOLD 1963).

Direkt nach ihrer Entstehung aus den B_2 -Spermatogonien haben primäre Spermatozyten einen Zelldurchmesser von $14\text{ }\mu\text{m}$ und einen Kerndurchmesser von $8\text{ }\mu\text{m}$ (KNUDSEN und BRYNE 1960). Der Zellkern ist kugelig und gleicht unmittelbar nach der Entstehung dem der B_2 -Spermatogonien, so daß es leicht zu Verwechslungen kommen kann (ORTRAVANT 1959).

Entsprechend den chromosomalen Vorgängen während der meiotischen Prophase sind morphologische Veränderungen der primären Spermatozyten im wesentlichen auf den meist runden oder leicht ellipsoiden Kern beschränkt (BERNDSTON und DESJARDINS 1974).

Für das Präleptotän ist ein fein granuliertes Chromatin charakteristisch. Im Leptotän treten feine, perlschnurartige Chromatinfilamente auf, die sich im Zygotän verstärken und teilweise gegeneinander versetzt, teilweise gepaart erscheinen. Im Pachytän findet man dicke Chromatinbänder, ein kleiner Nukleolus kann fast immer beobachtet werden. Dieses Erscheinungsbild bleibt auch während des Diplotäns und der Diakinese bestehen.

Während der meiotischen Prophase kommt es zu einer Zunahme des Kerndurchmessers, die deutlich mit Beginn des Diplotäns einsetzt und im Stadium der Diakinese ihren Höhepunkt erreicht (BERCHTHOLD 1963, BERNDSTON und DESJARDINS 1974).

Während die Prophase der meiotischen Teilung sehr lange dauert, folgen Metaphase, Anaphase und Telophase sehr rasch. In diesem Teilungsabschnitt findet man häufig die Chromosomen in der Äquatorialebene der Zelle angeordnet.

1.2.3. Sekundäre Spermatozyten

In den sekundären Spermatozyten vollzieht sich nach einem sehr kurzen Interkinesestadium, in welchem die Chromosomen nicht vollständig verschwinden, die zweite Reifeteilung, als deren Ergebnis die Spermatiden entstehen (BERCHTHOLD 1963). Da sich sekundäre Spermatozyten unmittelbar nach ihrer Entstehung erneut teilen, sind sie nur relativ selten in der Phase 8 des Keimepithelzyklus zu finden.

Sekundäre Spermatozyten liegen nahe dem Tubuluslumen, haben einen Zelldurchmesser von 16 μm und einen Kerndurchmesser von 10 μm (KNUDSEN und BRYNE 1960). Sie besitzen einen schwach anfärbbaren, runden Kern, der 5 - 6 unregelmäßig geformte Chromatinkondensate enthält, die durch ein feines Netzwerk miteinander verbunden sind (ORTAVANT 1959).

Sekundäre Spermatozyten können von neu gebildeten Spermatiden vor allem durch den geringeren Kerndurchmesser und durch die großen, runden Chromatinkörperchen im Kern unterschieden werden (BERNSTON und DESJARDINS 1974).

1.2.4. Spermatiden

An den Spermatiden vollziehen sich während der Spermatohistogenese auffällige Umgestaltungsprozesse. Diese kann man in einzelne Stadien unterteilen, welche wiederum zu den 4 Phasen der Spermatohistogenese, der Golgi-, Kappen-, Akrosom- und Reifungs-Phase zusammengefaßt werden (CLERMONT und LEBLOND 1955, TIBA 1965, HILSCHER 1974).

In der 1.Phase, der Golgi-Phase, die nach CLERMONT und LEBLOND (1955) sowie KRAMER, et al (1964) die Stadien 1 bis 3 umfaßt, werden durch den Golgi-Apparat die Proakrosomen- und Akrosomen-granula gebildet. Zudem wandern die Zentriolen zum kaudalen Kernpol.

In der 2.Phase, der Kappen-Phase, die nach CLERMONT und LEBLOND (1955) die Stadien 4 bis 7, nach KRAMER, et al (1964) die Stadien 4 bis 6 umfaßt, wird die Kopfkappe am kranialen Kernpol gebildet.

Sie stülpt sich im weiteren Verlauf über die kraniale Hälfte des Spermatidenkerns. Das Chromatin beginnt zu kondensieren, das Flagellum wird angelegt.

Die 3.Phase, die Akrosom-Phase, umfaßt nach CLERMONT und LEBLOND (1955) die Stadien 8 bis 12, nach KRAMER, et al (1964) die Stadien 7 bis 10. In dieser Phase wandert der Kern unter gleichzeitiger kranio-kaudal gerichteter Längsverformung in die Zellperipherie, wobei eine weiter zunehmende Chromatinkondensation zu beobachten ist. Die Mitochondrien sammeln sich im Bereich des späteren Mittelstückes des Spermiums. Die Spermatiden sind ab dieser Phase mit ihrem kranialen Pol, gekennzeichnet durch das Akrosom, zur Kanälchenperipherie orientiert.

Die 4.Phase, die Reifungs-Phase, umfaßt nach CLERMONT und LEBLOND (1955) die Stadien 13 bis 15, nach KRAMER, et al (1964) die Stadien 11 bis 16. In dieser Endphase der Spermatohistogenese bilden Kern und Akrosom die endgültige Form des Spermienkopfes, die Entwicklung des Flagellums und dessen Anhangsorganellen findet ihren Abschluß, und der größte Teil des Zytoplasmas wird als sog."Residual-Körper" (KINGSLEY-SMITH und LACY 1959) von Sertolizellen abgetrennt und phagozytiert.

Zusammenfassend kann man demnach feststellen, daß das lichtmikroskopische Bild der Spermatogenesezellen des Rindes bekannt ist.

Die Ultrastruktur der männlichen Germinativzellen während der Differenzierung im Samenkanälchen wurde jedoch bislang im wesentlichen nur beim Menschen und einigen Nagern beschrieben. Diesbezügliche Arbeiten über das Rind sind sehr spärlich. DYM und FAWCETT (1971) untersuchten die Spermatogenesezellen des Rindes, jedoch lediglich unter dem Aspekt der interzellulären Brücken. Von LEWIS und DICKEY (1968) liegt eine kurze Mitteilung über die Akrosomenentwicklung bei Spermatiden des Rindes vor.

Über Untersuchungen der Spermatogenesezellen des Rindes, im Hinblick auf eine eindeutige Differenzierung und Abgrenzung der Zellen voneinander sowie ihren ultrastrukturellen Besonderheiten, liegen bisher keine Mitteilungen vor.

2. MATERIAL UND METHODEN

Für die ultrastrukturelle Untersuchung der Spermatogenesezellen wurden die Hoden von 12 Rindern gewonnen. Die Tiere waren klinisch gesund und wiesen keine Veränderungen am Genitale auf.

Die Hoden wurden sofort nach der Schlachtung entnommen. Nach vorheriger Perfusion über die A. testicularis mit 0,1 mol Na - Cacodylat - Puffer (pH 7,2; 310 mOsmol, 4°C) wurde das Organ anschließend durch Perfusion mit einer 2 % GAH-Lösung (0,1 mol Na-Cacodylat-Puffer pH 7,2; 310 mOsmol, 4°C) in toto fixiert.

Nach 1,5 Std. wurden aus den Hoden an verschiedenen Stellen Gewebestücke von ca. 1 mm Kantenlänge geschnitten, und eine weitere Stunde in 6 % GAH-Lösung (pH 7,2; 310 mOsmol, 4°C) durch Immersion fixiert. Über Nacht wurden die Proben mit 0,1 mol Na-Cacodylat-Puffer (pH 7,2; 310 mOsmol, 4°C) weiterbehandelt.

Nach einer 3-stündigen Blockkontrastierung mit 1 % Osmiumtetroxid (MERK) wurden die Blöcke in einer aufsteigenden Acetonreihe entwässert und stufenweise in Araldit eingebettet.

Zur Bestimmung der Phasen des Keimepithelzyklus wurden zunächst für die lichtmikroskopische Untersuchung von den Gewebeproben sämtlicher Tiere Semidünnschnitte hergestellt und mit Methylblau gefärbt.

Auf Grund lichtmikroskopischer Ergebnisse wurden aus dem gesamten Material geeignete Blöcke für die ultrastrukturellen Untersuchungen der verschiedenen Phasen des Keimepithelzyklus sowie der einzelnen Zellen ausgewählt.

Die Ultradünnschnitte wurden auf einem LKB - ULTRATOM Typ 4802 mit Glasmessern hergestellt, mit 2 % Uranylacetat und Bleizitrat nachkontrastiert und im Elmiskop EM 101 (SIEMENS) ausgewertet.

Zur Berechnung des durchschnittlichen Heterochromatingehalts in den Kernen der Spermatogenesezellen wurden die Schnittbilder von je 10 Zellkernen jedes Entwicklungsstadiums innerhalb der Spermatogenese mit Millimeterpapier planimetriert. Dabei wurden nur solche Schnittbilder herangezogen, bei denen auf Grund der Größe der Schnittfläche anzunehmen war, daß die Schnitttrichtung annähernd durch den Kernmittelpunkt verläuft.

3. BEFUNDE

3.1. Einteilung der Phasen des Keimepithelzyklus

Lichtmikroskopische Untersuchungen semidünn geschnittener Gewebeproben ergaben sowohl im Quer- als auch im Längsschnitt von Samenkanälchen Variationen hinsichtlich der Höhe des Tubulusepithels sowie Art, Anzahl und Entwicklungsstadien von Spermatogonien, primären und sekundären Spermatozyten und Spermatiden. Diese Kriterien kommen in acht unterschiedlichen Kombinationen vor, die als acht verschiedene Phasen des Keimepithelzyklus anzusprechen sind.

Als Beginn des Keimepithelzyklus wurde die Phase festgelegt, in der als Ergebnis der zweiten meiotischen Teilung, neugebildete Spermatiden auftreten. Diese, am Beginn der Spermatohistogenese stehenden Spermatiden, werden als Spermatiden der jüngeren Generation bezeichnet, im Gegensatz zu denjenigen, die in den Phasen 1 bis 3 lumenwärts von diesen liegen und der älteren Generation angehören.

3.2. Ultrastruktur der verschiedenen Phasen des Keimepithelzyklus

Allgemeines

Als gemeinsames Merkmal aller Phasen des Keimepithelzyklus fällt eine ausgeprägte Schichtung des Tubulusepithels auf. Von der Basalmembran des Samenkanälchens ausgehend findet man in der untersten Zelllage Sertolizellen und Spermatogonien. Lumenwärts grenzt an diese immer eine Schicht primärer Spermatozyten, die sich phasentypisch in unterschiedlichen Stadien der meiotischen Prophase befinden. In den Phasen 1 bis 4 folgt darauf eine Zelllage von Spermatiden der jüngeren Generation, während man in den Phasen 5 bis 8 eine Schicht älterer primärer Spermatozyten am Ende der meiotischen Prophase findet. In der Phase 8 können hier auch alle Teilungsstadien beobachtet werden, die sich an die meiotische Prophase anschließen, sowie sekundäre Spermatozyten.

Die lumenseitige Epithelgrenze wird in den Phasen 1 bis 3 von Spermatiden der älteren Generation während der Reifungs-Phase bzw. von reifen Spermien gebildet. In den Phasen 4 bis 8 wird das Keimepithel von Spermatiden während der Akrosom- und beginnenden Reifungs-Phase begrenzt.

Bedingt durch die phasenweise unterschiedliche Anzahl der Zellagen variiert die Höhe des Keimepithels zwischen 60 und 90 μm .

Die Sertolizellen sind in allen Phasen des Keimepithelzyklus durch einen 8 bis 10 μm großen, durch tiefe Einbuchtungen unregelmäßig geformten Kern gekennzeichnet. Dieser weist zudem fast immer zentral gelegene Vakuolen auf. Die Zellen besitzen ein elektronenoptisch dichtes Zytoplasma, liegen mit breiter Fläche der Basalmembran an und entlassen lumenwärts lange, schmale und organellenreiche Ausläufer, in die abschnittsweise die verschiedenen Entwicklungsstadien der Keimzellen eingebettet sind.

Phase 1

Das gesamte Tubulusepithel weist in der Phase 1 des Keimepithelzyklus eine Höhe von ca. 70 - 80 μm auf (Abb.1).

An der Epithelbasis sind neben Sertolizellen (Abb. 1, SZ) Spermatogonien vom Typ A und I zu finden. Während die A-Spermatogonien immer eine ovale bis leicht dreieckige Form aufweisen, sind I-Spermatogonien ungleichmäßiger im Zellquerschnitt. Beiden Zellen ist gemeinsam, daß sie über weite Strecken mit ihren basalen Zellflächen in Kontakt zur Basalmembran des Samenkanälchens stehen. Weiterhin zeichnen sich A-Spermatogonien durch einen großen, im Schnittbild ovalen bis dreieckigen Kern aus. Er schließt einen zentralgelegenen Nukleolus ein, der bei I-Spermatogonien meist exzentrisch liegt. Das Zytoplasma erscheint in beiden Zellformen hell und ist arm an Organellen.

Lumenwärts schließt sich eine nachfolgende Schicht von Zellen an, die überwiegend von primären Spermatozyten im Stadium des frühen Pachytän der meiotischen Prophase gebildet wird (Abb.1, SzI). Wie alle primären Spermatozyten zeichnen sie sich insbesondere durch die Größe ihres Kerns aus. Primäre Spermatozyten im frühen Pachytän sind durch ein elektronenoptisch helles Grundplasma, wenig Zellorganellen sowie einen elektronenoptisch hellen Zellkern mit unterschiedlich stark verdichtetem Heterochromatin gekennzeichnet.

Lumenwärts schließt sich als dritte Zellage während der Phase 1 eine Zone neu gebildeter Spermatiden an (Abb.1, S). Diese Zellen sind gegenüber primären und sekundären Spermatozyten deutlich kleiner. Sie besitzen ein elektronenoptisch dichtes Zytoplasma mit zahlreichen Organellen und einen meist runden Kern mit vielfach mehreren exzentrisch gelegenen Nukleoli. Diese Zellen liegen in mehreren Schichten dem Kanälchenlumen zu.

Neben diesen Spermatiden der jüngeren Generation findet man solche der älteren Generation, die zum Teil gruppenweise tief im Keim-epithel liegend, die typische Form des abgeflachten Spermienkopfes erkennen lassen (Abb.1, Sp). Akrosom und Bewegungsorganell sind weitgehend ausgebildet. Diese Spermatiden befinden sich in der Reifungs-Phase.

Die innerste Lage des Samenkanälchens wird durch ein scheinbar ungeordnetes Nebeneinander von Spermatiden der älteren Generation, apikalen Zytoplasmaausläufern der Sertolizellen und sog. Residual-Körpern gebildet (Abb.1, RK).

Phase 2

Die gesamte Höhe des Keimepithels beträgt in der Phase 2 des Keimepithelzyklus ca. 70 μ m (Abb.2).

Die Phase 2 des Keimepithelzyklus ist im wesentlichen durch die weitere Entwicklung der Spermatiden der jungen, unreiferen und älteren, weiter differenzierten Generation gekennzeichnet.

Entlang der Basalmembran findet man Sertolizellen sowie A- und I-Spermatogonien entsprechend der in Phase 1 beschriebenen Lage und Struktur (Abb.2, SP).

Der inneren Epitheloberfläche zu schließt sich eine Schicht primärer Spermatozyten an (Abb.2, SzI). Diese befinden sich im Stadium des frühen Pachytän. Gegenüber dem vorausgehenden Entwicklungsstadium kann eine weitergehende Verdichtung des Euchromatins sowie eine stärkere Kondensierung des Grundplasmas beobachtet werden.

Die nächste Schicht des Keimepithels wird von Spermatiden der jüngeren Generation gebildet, die sich im Stadium der frühen Golgi-Phase befinden (Abb.2, S). Es treten erste proakrosomale und akrosomale Vakuolen auf, die zum Teil schon Kontakt zum Spermatidenkern erhalten. Eine bestimmte synchrone Orientierung

der Akrosomenanlage innerhalb der Spermatidenschicht ist nicht feststellbar. Die Kerne der Spermatiden sind rund und besitzen meist einen großen, seltener auch zwei, exzentrisch gelegene Nukleoli. Das Chromatin ist gleichmäßig verteilt und fein granuliert.

Die unreifen Spermatiden liegen meist in 4 bis 5 Schichten senkrecht übereinander, wobei immer je 2 bis 3 solcher Zell-Säulen durch langgestreckte Ausläufer der Sertolizellen getrennt werden. Innerhalb dieser Gruppen gleichartig differenzierter Keimzellen sind die Zellen häufig durch Zellbrücken miteinander verbunden. In die Ausläufer der Sertolizellen sind die morphologisch weitgehend differenzierten Stadien von Gameten der älteren Generation eingelagert (Abb.2, Sp). Die Spermien stehen senkrecht zur Basalmembran des Samenkanälchens. Die Spermienköpfe sind nach der Kanälchenperipherie orientiert.

Den lumenseitigen Epithelabschluß bilden wie in Phase 1 die apikalen Zytoplasmabezirke der Sertolizellen und Residual-Körper (Abb.2, RK).

Phase 3

Die Gesamthöhe des Keimepithels beträgt in der Phase 3 des Keimepithelzyklus ca. 70 - 80 μm (Abb.3).

In dieser Phase findet man nahe der Basalmembran neben Sertolizellen und A-Spermatogonien B-Spermatogonien, die hier zum ersten Mal auftreten (Abb.3, SZ, SP). Sie sind aus den I-Spermatogonien der Phase 2 hervorgegangen. I-Spermatogonien werden nicht mehr gefunden. B-Spermatogonien unterscheiden sich von den vorher beschriebenen vor allem durch ihren uneinheitlich geformten Zelleib, ihr elektronenoptisch dichtes Zytoplasma und einen ovalen Kern mit exzentrisch gelegenen Nukleolus. Das Heterochromatin weist deutliche Kondensation an der inneren Kernmembran und im Bereich des Nukleolus auf. Spermatogonien des Typs B haben nur eine geringe Kontaktfläche mit der Basalmembran.

Die zum Tubuluslumen nachfolgende Schicht des Keimepithels wird von primären Spermatozyten im Stadium des Pachytän gebildet (Abb.3, SzI). Dieses Differenzierungsstadium unterscheidet sich von Zellformen des frühen Pachytän nicht wesentlich.

Lumenwärts treten Spermatiden der jüngeren Generation auf, die wie in der Phase 2 säulenartig angeordnet und teilweise durch Zellbrücken untereinander verbunden sind (Abb.3, S). Die Spermatiden befinden sich in der ausgeprägten Golgi-Phase, wobei der auffälligste Unterschied zu den Spermatiden der Phase 2 in der zum Teil mächtig ausgebildeten Akrosomenvakuole besteht, die großflächig mit dem Spermatidenkern in Kontakt steht. Auch in dieser Phase sind die Akrosomenanlagen der Spermatiden noch nicht synchron ausgebildet.

Den lumenseitigen Abschluß des Keimepithels bilden wiederum apikale Ausläufer der Sertolizellen und Residual-Körper, in welche strukturell ausdifferenzierte Spermien der älteren Generation eingebettet liegen (Abb.3, RK, Sp).

Phase 4

Während man in den Phasen 1 bis 3, bedingt durch zwei Spermatidengenerationen, und in den Phasen 5 bis 8, durch zwei Generationen primärer Spermatozyten bzw. primärer und sekundärer Spermatozyten, immer vier Lagen von Zellen unterschiedlichen Differenzierungsgrades im Keimepithel findet, zeichnet sich die Phase 4 vor allem dadurch aus, daß sie nach Abgabe reifer Spermien in das Lumen während der Phase 3 nur noch aus drei Zelllagen besteht. Aus diesem Grund beträgt die Gesamthöhe des Keimepithels im Durchschnitt nur noch ca. 60 μ m (Abb.4).

Neben vereinzelter A-Spermatogonien findet man längs der Basalmembran vermehrt B-Spermatogonien, deren Heterochromatin, im Vergleich zu denen der Phase 3, im Bereich des Nukleolus und der inneren Kernmembran noch weiter vermehrt ist (Abb.4, SP).

Die sich anschließende Zellage des Keimepithels wird gebildet von primären Spermatozyten im Stadium des späten Pachytän (Abb.4, SzI). Auffällig an diesen Zellen ist insbesondere die starke Verdichtung des Heterochromatins an der Kernperipherie und die "Cluster"-Bildung der Mitochondrien.

Die lumenseitige Zellage wird gebildet von Spermatiden der Kappen-Phase (Abb.4,S). Die meist runden Zellen sind wiederum säulenartig angeordnet, häufig durch Zellbrücken miteinander verbunden und fallen durch ein elektronenoptisch relativ helles Zytoplasma auf, das infolge einer starken Durchsetzung mit Vakuolen auffallend locker erscheint. Die Akrosomenvakuole umschließt bis zu zwei Dritteln kappenartig den Spermatidenkern. Das Heterochromatin liegt in Form kleiner Aggregate vor, wobei insbesondere an der inneren Kernmembran unter der Akrosomenanlage Heterochromatinverdichtungen auftreten. Ab der Phase 4 sind die Akrosomenanlagen der Spermatiden einheitlich in Richtung auf die Tubulusperipherie orientiert.

Mit der Entlassung der reifen Spermien in das Tubuluslumen während der Phase 3 ist auch die lumenseitige Häufung apikaler Ausläufer der Sertolizellen und Residual-Körper weitestgehend verschwunden. Reste der Residual-Körper können entweder im Zytoplasma der Sertolizellen oder zusammen mit reifen Spermien im Tubuluslumen beobachtet werden. Die apikalen Ausläufer der Sertolizellen haben sich in Richtung auf die Tubulusperipherie zurückgezogen.

Phase 5

Die Gesamthöhe des Keimepithels beträgt in der Phase 5 ca. 70 - 80 μm (Abb.5). An der Basis des Tubulus findet man nur noch Sertolizellen und Spermatogonien des Typs A (Abb.5, SZ, SP).

Aus den B-Spermatogonien der Phase 4 sind primäre Spermatozyten hervorgegangen, die sich im Stadium des Präleptotän befinden (Abb.5, SzI). Diese Zellen weisen ein elektronenoptisch auffallend helles, organellenarmes Zytoplasma und einen hellen Kern auf.

Die zum Tubuluslumen folgende Zellage wird von den älteren primären Spermatozyten gebildet, die sich im Übergang vom Pachytän zum Diplotän befinden (Abb.5, SzI). Das Zytoplasma dieser Zellen ist elektronenoptisch dicht und reich an Organellen. Die Kerne sind annähernd oval und weisen stark verdichtete Heterochromatinaggregate auf, die sich der inneren Kernmembran anlagern.

Lumenseitig begrenzt wird das Keimepithel von Spermatiden der Akrosom-Phase (Abb.5,S). Die Spermatidenkerne sind randständig, längsoval und durch eine fortgeschrittene Kondensation des Chromatins gekennzeichnet. Der Kern ist zu mehr als zwei Dritteln von einem Akrosom umgeben, das an der Spermatidenspitze eine beulenartige Verdickung aufweist. Der akrosomfreie Kernbereich wird von der sich in diesem Stadium entwickelnden Manschette umschlossen. Sämtliche zytoplasmatischen Zellorganellen sind in einen sackartigen Zytoplasmaanhang zurückgedrängt. Zudem beginnt sich an der Basis des Spermatidenkerns aus den Zentriolen das Bewegungsorganell des Spermiums zu bilden.

Phase 6

Die Gesamthöhe des Keimepithels beträgt in der Phase 6 des Keimepithelzyklus durchschnittlich ca. 70 μm (Abb.6).

Längs der Basalmembran findet man neben Sertolizellen A-Spermatogonien in geringer Anzahl (Abb.6, SZ).

Die lumenwärts folgende Zellage wird von primären Spermatozyten der jüngeren Generation gebildet, die sich im Leptotän befinden (Abb.6, SzI). Ähnlich wie die primären Spermatozyten im Präleptotän fallen auch diese Zellen durch elektronenoptisch helles Zytoplasma und hellen Kern auf.

Lumenseitig schließen sich primäre Spermatozyten im Stadium des Diplotän an, die meist eine einschichtige Zellage bilden (Abb.6, SzI). Ihr Aussehen ähnelt dem der älteren primären Spermatozyten der Phase 5. Sie weisen einen runden oder leicht

ovalen Kern auf, der durch häufig in regelmäßigen Abständen angeordnete Heterochromatinkondensationen an der inneren Kernmembran gekennzeichnet ist.

Den lumenseitigen Epithelabschluß bilden wiederum Spermatiden, die sich in der fortgeschrittenen Akrosom-Phase befinden (Abb.6,S). Der Spermatidenkern erfährt eine weitere Streckung und beginnende Abflachung. Das Heterochromatin kondensiert zu grobgranulären oder filamentösen Aggregaten, wobei es im distalen Kernbereich zu einem auffallenden Abheben des Chromatins von der Kernmembran kommt, ein Vorgang, der im Frühstadium, teilweise schon in der Akrosom-Phase der Phase 5 zu sehen ist. Die Manschette ist voll ausgebildet und das Verbindungsstück zwischen Spermatidenkern und Flagellum beginnt sich zu entwickeln. Das Zytoplasma der Spermatiden ist noch weiter lumenwärts abgedrängt, und erste Ausläufer der Sertolizellen schieben sich in das Zytoplasma der Spermatiden vor. Daneben können wieder Residual-Körper beobachtet werden (Abb.6, RK). Die Zytoplasmaanteile der Spermatiden und die der Sertolizellen sind jedoch noch deutlich gegeneinander abzugrenzen.

Phase 7

Die Gesamthöhe des Keimepithels beträgt in der Phase 7 im Durchschnitt 60 μm (Abb.7).

Auch in dieser Phase des Keimepithelzyklus findet man, wie in den Phasen 5 und 6, längs der Basalmembran nur Sertolizellen und A-Spermatogonien (Abb.7, SZ, SP).

Die lumenwärts angrenzende Zellage wird gebildet von primären Spermatozyten der jüngeren Generation, die sich im Zygotän der meiotischen Prophase befinden (Abb.7, SzI). Durch eine dichtere Granulierung des Zytoplasmas und eine Zunahme der Anzahl der Organellen erscheint die Zelle dunkler als während des Leptotäns. Die Zellkerne sind gegenüber dem vorausgehenden Teilungsstadium durch eine deutliche Zunahme des Heterochromatins gekennzeichnet.

An die primären Spermatozyten der jüngeren Generation schließt sich eine Zellage älterer primärer Spermatozyten an, die sich in der Diakinese befinden (Abb.7, SzI). Wie die primären Spermatozyten im Diplotän weisen auch sie ein dunkles, organellenreiches Zytoplasma auf. Die "Cluster"-Bildung der Mitochondrien, die schon in den vorausgehenden Stadien zu finden war, erreicht ihren Höhepunkt. Die wandständigen Heterochromatinverdichtungen sind denen des vorausgehenden Stadiums ähnlich, wenn auch nicht mehr so regelmäßig. Meist ist ein randständiger Nukleolus zu finden.

Die Spermatiden, die sich am Ende der Akrosom-Phase befinden, sind in ihrer Entwicklung weiter fortgeschritten, wobei besonders die zunehmende Streckung und Abflachung des Spermatidenkerns sowie die schon starke Chromatinkondensation hervorzuheben ist (Abb.7,S). Lumenseitig ist eine deutliche Abschnürung des Zytoplasmas der Spermatiden durch die Sertolizellen zu beobachten (Abb.7, RK).

Phase 8

Die Gesamthöhe des Keimepithels schwankt in der achten und letzten Phase des Keimepithelzyklus des Rindes zwischen 70 und 90 μm (Abb.8, 9).

Sie beginnt mit der Metaphase der ersten Reifeteilung der primären Spermatozyten und endet mit dem Abschluß der zweiten Reifeteilung der sekundären Spermatozyten. All diese Teilungsprozesse nehmen nur einen relativ geringen Zeitraum in Anspruch, so daß in dieser Phase in den mittleren Lagen des Keimepithels mehrere verschiedene Teilungsstadien und Zellarten zu finden sind.

Ähnlich wie in Phase 1 und 2 findet man längs der Basalmembran neben Sertolizellen Spermatogonien der Typen A und I (Abb.8, 9, SZ, SP). Morphologisch entsprechen sie den in diesen Phasen beschriebenen.

Die zweite Zellage wird gebildet von primären Spermatozyten der jüngeren Generation, die sich im fortgeschrittenen Zygotän befinden (Abb.8, 9, SzI). Das Zytoplasma dieser Zellen ist

elektronenoptisch hell und organellenarm. Im Kern kommt es jedoch zu einer weiteren Zunahme und Kondensation des Heterochromatins, das sich vorzugsweise in einer Kernhälfte ansammelt.

In der lumenwärts folgenden Zellage können primäre Spermatozyten in sämtlichen sich der meiotischen Prophase anschließenden Teilungsstadien angetroffen werden. Darüber hinaus treten sekundäre Spermatozyten vor Beginn der Teilung in Spermatiden auf.

Ein relativ häufiges Bild ist dabei das von primären Spermatozyten in der Metaphase der meiotischen Teilung (Abb.8, SzI). Die Kernmembran ist verschwunden und die Chromosomen befinden sich in der Äquatorialebene der Zelle im Monaster.

Sekundäre Spermatozyten sind nur relativ selten im Schnittbild zu finden (Abb.9, SzII). Sie sind durch ihre meist isoprismatische Form, ihr elektronenoptisch feingranuläres Zytoplasma und ihren relativ hohen Gehalt an Organellen gekennzeichnet. Auffallend ist insbesondere, daß sich in diesem Stadium die Mitochondrien-"Cluster" auflösen. Gleichzeitig findet man erste Chromatoid-Körper. Der Kern der Spermatozyten ist dunkel granuliert und weist mehrere, zum Teil randständige Heterochromatinaggregate auf.

Zwischen den sekundären Spermatozyten und dem Tubuluslumen treten Spermatiden der beginnenden Reifungs-Phase auf, die ährenförmig, tief in die Ausläufer der Sertolizellen eingebettet sind (Abb.9,S). Das Chromatin ist fast vollständig homogen kondensiert, eine Manschette ist nicht zu beobachten und das Flagellum ist weitgehend differenziert. Das für reife Spermien überflüssige Zytoplasma der Spermatiden ist von den apikalen Ausläufern der Sertolizellen fast vollständig abgeschnürt und bildet mit diesen als Residual-Körper die lumenseitige Begrenzung des Keimepithels (Abb.8; 9, RK).

3.3. Ultrastrukturelle Befunde zur Spermatogenese

3.3.1. Spermatogonien

A-Spermatogonien sind in allen Phasen des Keimepithelzyklus zu finden. Es handelt sich um große, gleichförmige Zellen, die in enger Lagebeziehung zur Basalmembran des Samenkanälchens stehen (Abb.10; 60).

Die durchschnittliche Zellgröße beträgt $17 \times 8 \mu\text{m}$. Sie sind überwiegend oval mit abgeflachter Basalfläche, zuweilen dreieckig. Die Längsachse der Zelle liegt parallel zur Basalmembran. A-Spermatogonien liegen mit ihrer gesamten Basisfläche der Basalmembran an, lediglich in den Randbereichen der Zelle können sich gelegentlich Ausläufer der Sertolizellen zwischen A-Spermatogonie und Basalmembran einschieben. Nicht selten findet man ca. $0,7$ bis $1 \mu\text{m}$ große, vom Plasmalemm der Spermatogonie umgebene, pilzförmige Vorwölbungen der Basalmembran in die Zelle (Abb.11). Die lamelläre Struktur der Basalmembran ist an diesen Stellen besonders auffallend (Abb.10; 11; Bm).

Der Zellkern ist oval mit einer durchschnittlichen Größe von $12 \times 7,5 \mu\text{m}$ (Abb.10, N), die Längsachse des Kerns liegt parallel zur Basalmembran. Durch die Größe des Kerns kommt das Zytoplasma in seiner Hauptmasse seitlich des Kerns zu liegen, so daß zwischen Kernmembran und basalmembranseitiger Zellgrenze sowie Kernmembran und lumennäheren Zellgrenze meist nur ein relativ schmaler Zytoplasmasaum von durchschnittlich $0,5$ bis $1 \mu\text{m}$ Dicke verbleibt.

Die Kernmembran weist zahlreiche Kernporen auf, die mit mäßig elektronendichtem, homogenen Material gefüllt sind. Sie sind regelmäßig über die Kernmembran verteilt.

Das Heterochromatin ist feinflockig und gleichmäßig über die ganze Schnittfläche verteilt, wobei lediglich einzelne, maximal $0,5 \mu\text{m}$ große, dunkel granulierte Heterochromatinaggregate meist in der Nähe des Nukleolus zu beobachten sind. Der durchschnittliche

Heterochromatingehalt der Kerne von A-Spermatogonien beträgt 1,6 %, bei Extremwerten von 1 und 2,8 %.

Charakteristisch ist ein $2 \times 3 \mu\text{m}$ großer, stets zentralständiger, gegen das Nukleoplasma deutlich abgesetzter Nukleolus (Abb.10, N1). Er besteht in seiner Hauptmasse aus einem dichten, von wabigen Aufhellungen durchsetzten Nukleolonema. Fast immer ist aber auch eine kleine, ca. $0,3 \mu\text{m}$ im Durchmesser betragende, heller granuliert Pars amorpha zu beobachten, die ihrerseits wieder von einem besonders dichten Nukleolonemasaum begrenzt wird. Vereinzelt kann im Kern ein fein granulierter, ca. $1 \mu\text{m}$ großer Chromoplast gefunden werden.

Das Grundplasma der A-Spermatogonien ist locker und fein granuliert. Der Organellengehalt ist, insbesondere im Vergleich zu den sie umgebenden Sertolizellen, gering.

Die Mitochondrien vom Cristae-Typ (Abb.10, M) sind $0,5$ bis $1 \mu\text{m}$ groß und rund oder längsoval. Sie sind einzeln, unregelmäßig im Zytoplasma verteilt, vor allem seitlich des Zellkerns. Nur wenige sind auch in dem schmalen Zytoplasmasaum über und unter dem Kern anzutreffen.

Ebenso wie die Mitochondrien ist auch das Golgi-Feld meist seitlich des Kerns zu finden (Abb.10, G). Es weist ultramorphologisch die diesem Zellorganell typische Struktur aus ineinander geschichteten Säckchen und Vakuolen auf. Sein Durchmesser erreicht selten mehr als $1,8 \mu\text{m}$.

A-Spermatogonien besitzen nur wenig, regellos verteiltes endoplasmatisches Retikulum (Abb.10, ER). Es handelt sich dabei um ein kurzes, maximal $1 \mu\text{m}$ langes, Netzwerk vom granulären Typ, das aber nur sehr spärlich mit Ribosomen besetzt ist. Daneben findet man, gleichmäßig über das Zytoplasma verteilt, eine Vielzahl Monoribosomen oder rosettenartig angeordneter Polyribosomen (Abb.11, R).

I-Spermatogonien findet man in den Phasen 1, 2 und 8 des Keimepithelzyklus.

Wie die A-Spermatogonien liegen sie der Basalmembran des Samenkänälchens an, wobei jedoch die Kontaktfläche der Zelle mit der Basalmembran kleiner ist (Abb.12; 60). Die häufig ausgeprägte Dreiecksform der A-Spermatogonien ist nicht mehr zu beobachten. Sie sind bei einem durchschnittlichen Zelldurchmesser von $15 \times 9 \mu\text{m}$ durch eine oftmals querovale Schnittfläche mit leicht abgeflachter Zellbasis gekennzeichnet. Auch der basal- und lumen-seitige Zytoplasmasaum zwischen Kern und Zellmembran ist nicht mehr so dünn wie bei A-Spermatogonien beschrieben und beinhaltet vermehrt Zellorganellen.

Der Zellkern ist mit durchschnittlich $9 \times 7 \mu\text{m}$ kleiner als bei A-Spermatogonien und entsprechend der Zellform meist oval (Abb.12,N). Zuweilen treten Kerneinbuchtungen auf. Die Längsachse von Zelle und Kern liegt parallel zur Basalmembran.

Die Poren der Kernmembran sind ebenfalls mit feingranuliertem Material ausgefüllt. Das Nukleoplasma ist elektronenoptisch dichter und vermehrt mit granuliertem Material durchsetzt als bei A-Spermatogonien beobachtet. Daneben kann eine Zunahme kleiner elektronenoptisch dichter Heterochromatinaggregate, vor allem im Bereich des Nukleolus und an der inneren Kernmembran auftreten. Der durchschnittliche Heterochromatingehalt beträgt 3,1 %, bei Extremwerten von 2,9 und 3,3 %.

Der meist runde Nukleolus hat einen Durchmesser von $2,5 \mu\text{m}$ und ein ähnliches Erscheinungsbild wie bei A-Spermatogonien (Abb.12, N1). Er liegt vielfach leicht exzentrisch.

Das Grundplasma ist fein granuliert und dichter als bei A-Spermatogonien. Mitochondrien und endoplasmatisches Retikulum sowie Ribosomen entsprechen den vorher beschriebenen Formen. Auffällig ist ein mitunter stark ausgeprägtes Golgi-Feld, in dessen Zentrum auch Zentriolen gefunden werden können (Abb.12, G, Z).

Im Gegensatz zu A-Spermatogonien treten vermehrt Lysosomen auf (Abb.12, ). Ihre Größe beträgt bis zu 0,2 μ m. Stellenweise liegen sie gehäuft vor.

B-Spermatogonien findet man in der Phase 3 als B₁- und in der Phase 4 als B₂-Spermatogonien.

Im Gegensatz zu A- und I-Spermatogonien haben B-Spermatogonien häufig nur noch wenig Kontakt zur Basalmembran (Abb.13; 14; 60). Ausläufer der Sertolizellen schieben sich weit zwischen die B-Spermatogonien und die Basalmembran ein.

B-Spermatogonien sind oval mit unregelmäßigen Einbuchtungen. B₁-Spermatogonien sind durch eine durchschnittliche Größe von 16 x 8 μ m gekennzeichnet, B₂-Spermatogonien sind meist geringfügig kleiner.

B₁-Spermatogonien besitzen einen ca. 9 x 7 μ m großen, durch flache Buchten eingezogenen, ovalen bis birnenförmigen Kern mit granuliertem Nukleoplasma (Abb.13, N). Der prozentuale Flächenanteil der Heterochromatinverdichtungen nimmt im Vergleich zu I-Spermatogonien weiter zu. Sie umlagern hauptsächlich den fast randständig gelegenen Nukleolus und füllen häufig den Raum zwischen Nukleolus und Kernmembran vollständig aus (Abb.13, Hc). Der durchschnittliche Heterochromatingehalt beträgt 5,2 %, bei Extremwerten von 4,8 und 5,4 %.

B₁-Spermatogonien besitzen einen randständigen Nukleolus von durchschnittlich 2,5 μ m Durchmesser (Abb.13, N1). Wie bei A- und I-Spermatogonien ist auch hier ein wabig strukturiertes Nukleolomena und eine kleine Pars amorpha zu unterscheiden.

Das Grundplasma ist ähnlich dem der I-Spermatogonien. Im Gegensatz zu diesen findet man die Mitochondrien häufig in Gruppen gelagert. An den Berührungsstellen benachbarter Mitochondrien treten elektronenoptisch dunkle Materialverdichtungen auf (Abb.13, ). Die Mitochondrienmembran erscheint dabei unverändert.

Das endoplasmatische Retikulum erreicht eine Länge von 2 bis 3 μm (Abb.13, ER). Zudem ist ein höherer Gehalt an Ribosomen und Polyribosomen zu verzeichnen, während die Zahl der Lysosomen geringer als bei I-Spermatogonien ist (Abb.13, R).

B₂-Spermatogonien unterscheiden sich von B₁-Spermatogonien neben ihrer etwas geringeren Größe auch durch einen kleineren Kern, dessen Durchmesser durchschnittlich 8 x 6 μm beträgt (Abb.14, N). Zudem ist er durch Einbuchtungen wesentlich unregelmäßiger gestaltet als die Kerne aller anderen Spermatogonien-Typen. Der durchschnittliche Heterochromatingehalt steigt auf 7,3 %, bei Extremwerten von 6, 8 und 7,5 %.

Der meist in der Einzahl, vereinzelt auch doppelt vorliegende, 1,5 bis 2,5 μm große Nukleolus ist exzentrisch gelegen und wegen Heterochromatinanlagerungen nicht deutlich vom umgebenden Nukleoplasma abgesetzt (Abb.14, N1). Deutlich sind Nukleolonema und Pars amorpha zu unterscheiden.

Das Zytoplasma erscheint elektronenoptisch dichter als bei B₁-Spermatogonien. Auch hier liegen die Mitochondrien meist gruppenweise vor, wobei an den Berührungsstellen ebenfalls Materialverdichtungen auftreten können (Abb.14, M). Das rauhe endoplasmatische Retikulum ist unterschiedlich stark erweitert. Lediglich im Bereich der Mitochondriengruppen liegt es diesen in Form einzelner schmaler Platten und Schläuche an (Abb.14, ←).

3.3.2. Primäre Spermatozyten

Bedingt durch die lange Dauer der meiotischen Prophase sind primäre Spermatozyten in allen acht Phasen des Keimepithelzyklus zu finden. Dabei werden die klassischen Stadien der Meiose durchlaufen, die sich auch ultrastrukturell auffällig unterscheiden.

Primäre Spermatozyten im Präleptotän findet man in der Phase 5 des Keimepithelzyklus in der zweiten Zellage des Samenepithels (Abb.5). Es handelt sich hierbei um durchschnittlich 15 x 9,5 μm große, ovale

Zellen, mit flachen Einbuchtungen, die sich auf Grund ihrer elektronenoptisch hellen Kern- und Plasmastruktur deutlich von den dunkleren umgebenden Zellen abheben (Abb.15).

Der Zellkern ist $11 \times 8,5 \mu\text{m}$ groß, oval und von einer unregelmäßig gewellten Kernmembran umgeben, in der nur wenige Poren zu finden sind (Abb.15, N). Das Chromatin ist unterschiedlich strukturiert. Man findet weite Bereiche elektronenoptisch fast leer, andere Kernzonen schließen flockenartige, meist lockere Heterochromatinaggregate ein. Lediglich im Zentrum verdichten sich größere Heterochromatinkondensate (Abb.15, Hc).

Ein Kontakt des Heterochromatins zur inneren Kernmembran besteht in der Regel nicht. Der Heterochromatingehalt beträgt im Durchschnitt 16,1 %, bei Extremwerten von 14,5 und 18,2 %. Ein Nukleolus konnte in diesem Teilungsstadium in keinem Fall gefunden werden.

Das Zytoplasma ist feinflockig und sehr locker. Der Gehalt an Organellen ist extrem gering. Die Mitochondrien vom Cristae-Typ liegen entweder einzeln im Zytoplasma oder in Gruppen zu zwei oder drei (Abb.15, M). Das wenige rauhe endoplasmatische Retikulum zeigt sich im Schnittbild als dünne, bis zu $2 \mu\text{m}$ lange Platten oder kleine Vakuolen, die regellos im Zytoplasma liegen. Ihre Membranen sind nur sehr spärlich mit Ribosomen besetzt (Abb.15, ER). Daneben findet man auch Monoribosomen und rosettenartige Polyribosomen.

Primäre Spermatozyten im Leptotän findet man in der Phase 6 des Keimepithelzyklus ebenfalls in der zweiten Zelllage des Samenepithels (Abb.6). Bei einer zyklusbedingten kleinen Zahl an Spermatogonien kommen sie aber auch sehr nahe der Basalmembran zu liegen. Ihr Erscheinungsbild ähnelt dem der primären Spermatozyten im Präleptotän.

Im Leptotän sind primäre Spermatozyten mit einer durchschnittlichen Zellgröße von $14 \times 12 \mu\text{m}$ etwas größer als primäre Spermatozyten im Präleptotän. Die Zellform ist meist rund, zuweilen oval (Abb.16; 60).

Der Zellkern ist bei einer Größe von $11 \times 8 \mu\text{m}$ stets oval (Abb.16, N). Seine Oberfläche weist unregelmäßig geformte, flache Buchten auf. Der Heterochromatingehalt beträgt durchschnittlich 21,8 %, bei Extremwerten von 20,7 und 22,9 %. Vielfach sind im Nukleoplasma ein oder mehrere ringförmige, elektronenoptisch sehr dichte Heterochromatinformationen von ca. $0,5 \mu\text{m}$ Durchmesser zu finden (Abb.16, $\leftarrow$). Auch in diesem Teilungsstadium ist ein Nukleolus nicht nachzuweisen.

Das Zytoplasma der primären Spermatozyten im Präleptotän ist ebenso schwach kontrastiert und organellenarm wie das der vorher beschriebenen Spermatozyten. Auffällig ist lediglich, daß die wenigen Platten des rauen endoplasmatischen Retikulums bei einer Dicke von ca. $500 \text{ \AA}$ die außergewöhnliche Länge von bis zu $8 \mu\text{m}$ erreichen können (Abb.16, ER). Die Mitochondrien liegen meist einzeln im Zytoplasma verteilt (Abb.16, M). Das Golgi-Feld weist einen Durchmesser von ca. $2,3 \mu\text{m}$ auf, wobei mehrere mehrschichtige Membranplatten sich tangential um eine Ansammlung kleiner Vakuolen gruppieren (Abb.16, G).

Primäre Spermatozyten im Zygotän findet man in der Phase 7 und 8 des Keimepithelzyklus in der zweiten Zellschicht des Epithels, wobei die Zellen in der Phase 7 als im Stadium des frühen, die Zellen in der Phase 8 als im Stadium des ausgeprägten Zygotäns anzusprechen sind (Abb.7, 8). In beiden Fällen handelt es sich um elektronenoptisch helle Zellen mit einer durchschnittlichen Größe von $14 \times 13 \mu\text{m}$. Sie sind meist rund bis oval, zuweilen auch polygonal (Abb.17; 60).

Der Kern ist oval mit leicht gewellter Oberfläche und einem durchschnittlichen Durchmesser von $10,5 \times 8 \mu\text{m}$ (Abb.17, N). Er ist damit etwas kleiner als der primärer Spermatozyten im Leptotän.

Während das Euchromatin feinflockig und elektronenoptisch sehr hell erscheint, findet man insbesondere im ausgeprägten Zygotän viele große, dichte Heterochromatinaggregate von flockiger Struktur (Abb.17, Ec, Hc). Einige davon haben Kontakt zur inneren Kernmembran. Der Heterochromatingehalt beträgt im frühen Zygotän durchschnittlich 28,2 %, bei Extremwerten von 26 und 31,4 %. Im ausgeprägten Zygotän der Phase 8 findet man einen durchschnittlichen Heterochromatingehalt von 36,4 %, bei Extremwerten von 31,6 und 42,4 %. Dieser Heterochromatingehalt ist damit im Zygotän der höchste, der bei primären Spermatozyten errechnet wurde. Auffällig ist zudem das Auftreten von bis zu 0,8 μ m langen synaptone-malen Komplexen, die häufig mit einem Ende der inneren Kernmembran anliegen (Abb.17, SK).

In wenigen Fällen konnte ein nur ca. 1,5 x 1 μ m großer, exzentrisch gelegener Nukleolus gefunden werden, der sich etwa zu gleichen Teilen aus Nukleolonema und Pars amorpha zusammensetzt.

Das Zytoplasma hat insgesamt ein dunkleres Erscheinungsbild als bei primären Spermatozyten im Leptotän. Dies ist zum einen darauf zurückzuführen, daß das Zytoplasma feingranulär aber elektronen-optisch dichter, zum anderen aber der Gehalt an Zellorganellen deutlich erhöht ist.

Die runden bis ovalen Mitochondrien liegen meist einzeln, gleich-mäßig verteilt im Zytoplasma, nur selten kommt es zu Gruppierungen (Abb.17, M). Ihre Zahl ist im Vergleich zu primären Spermatozyten im Leptotän nicht wesentlich erhöht.

Demgegenüber ist eine deutliche Zunahme des endoplasmatischen Retikulums zu verzeichnen (Abb.17, ER). Es besteht aus kleinen Vesikeln oder 0,5 bis 2 μ m langen Platten und ist nur spärlich mit Ribosomen besetzt. Stellenweise sind diese Organellen annähernd parallel zur Kernmembran orientiert. Daneben findet man Mono- und Polyribosomen. Das Golgi-Feld liegt immer in der Nähe des Kerns und besteht aus eng ineinandergeschichteten, halbmond-

förmig angeordneten Säckchen und kleinen Vesikeln. In wenigen Fällen wurde ein großer Golgi-Apparat in der Ausdehnung von $6 \times 1,5 \mu\text{m}$ gefunden (Abb.17, G).

Als Besonderheit treten bei primären Spermatozyten im ausgeprägten Zygotän Ansammlungen unregelmäßig geformter $0,3$ bis $0,8 \mu\text{m}$ großer Vesikel auf (Abb.18). Die einzelnen Vesikel besitzen zum Teil eine scharf konturierte Membran. Ihr Inhalt ist unterschiedlich: Einige sind elektronenoptisch fast leer, andere enthalten feingranuliertes, unterschiedlich dichtes Material, vereinzelt findet man im Inneren locker gepackte, kleinste Vesikel oder Tubuli. Zudem sind in enger Nachbarschaft zu diesen Vesikeln elektronenoptisch dichte, feingranulierte Zytoplasmaverdichtungen sowie scharf konturierte, 800 bis $1500 \text{ \AA}$ lange Membranspangen zu beobachten.

Primäre Spermatozyten im frühen Pachytän findet man in der zweiten Zelllage des Tubulusepithels in den Phasen 1 und 2 des Keimepithelzyklus, wobei es sich in der Phase 1 noch mehr um ein Übergangsstadium vom ausgeprägten Zygotän zum frühen Pachytän handelt (Abb.1, 2).

Die Zellen ähneln in Größe und Struktur während dieser Übergangsphase stark den primären Spermatozyten im Zygotän. Lediglich die Heterochromatinanlagerungen an der inneren Kernmembran nehmen zu und die synaptonemalen Komplexe werden durchschnittlich länger (bis zu $1,5 \mu\text{m}$). In der Grundstruktur des Zytoplasmas, der Zahl, Lage und Struktur der Organellen ist im Vergleich zu den vorher beschriebenen primären Spermatozyten keine wesentliche Veränderung zu beobachten.

Demgegenüber ist an primären Spermatozyten der Phase 2 eine weitergehende Differenzierung festzustellen (Abb.19).

Die Zellen haben eine durchschnittliche Größe von $14 \times 13 \mu\text{m}$, eine runde bis leicht polygonale Form und sind insgesamt elektronenoptisch dunkler als Spermatozyten des vorausgehenden Meiosestadiums.

Der zumeist ovale, manchmal annähernd runde Kern hat eine durchschnittliche Größe von $9,5 \times 8 \mu\text{m}$. Er ist von einer feingewellten Kernmembran umgeben. Dieses Stadium ist auch durch das Auftreten einer großen Zahl von Kernporen gekennzeichnet (Abb.19, ←). Sie liegen in einigen Kernzonen vermehrt nebeneinander, während weite Membranbereiche frei von Poren bleiben. An den Kernporen kondensiert sich feingranuliertes, elektronenoptisch dichtes Material.

Im Vergleich zu den primären Spermatozyten im Zygotän ist das Euchromatin dichter geflockt, teilweise feingranulär, wodurch eine Abgrenzung von Euchromatin und Heterochromatin erschwert ist (Abb.19, Ec, Hc). Über die gesamte Schnittfläche des Kerns sind unregelmäßig locker-flockige Heterochromatinaggregate unterschiedlicher Größe und Dichte verteilt. Meist treten zwei oder drei größere und dichter granulierte Chromatinkondensate über eine Strecke von bis zu $2 \mu\text{m}$ in engen Kontakt zur inneren Kernmembran (Abb.19, ↙). Der durchschnittliche Heterochromatingehalt pro Kernanschnitt beträgt 35,4 %, bei Extremwerten von 29,7 und 40,5 %. Vereinzelt findet man Komplexe aus Parachromatigranula, die von einem hellen Hof sehr lockeren Euchromatins umgeben sind (Abb.19, PcG). In größeren Heterochromatinkondensaten sind auch kurze synaptonemale Komplexe anzutreffen. In manchen Fällen findet man einen kleinen, randständigen Nukleolus.

Das Zytoplasma weist gegenüber dem Zygotän eine höhere elektronenoptische Dichte auf. Auch ein Anstieg im Organellengehalt ist zu beobachten.

Die meist kleinen, längsovalen oder langgestreckten Mitochondrien vom Cristae-Typ liegen vielfach einzeln im Zytoplasma (Abb.19, M). Stellenweise legen sich zwei oder mehrere Mitochondrien aneinander. Benachbarte Mitochondrien können vereinzelt an den Kontaktstellen durch elektronenoptisch verdichtet erscheinendes Material verbunden sein.

Das endoplasmatische Retikulum ist im Vergleich zu primären Spermatozyten im Zygotän stark vermehrt und liegt in Form kleiner, länglicher Bläschen oder häufiger als 1 bis 2 μm lange Platten in zuweilen konzentrischer Schichtung parallel zur Kern- oder Plasmamembran (Abb.19, ER). Der Gehalt an Mono- und Polyribosomen ist gegenüber primären Spermatozyten im Zygotän unverändert.

Auch in diesem Teilungsstadium findet man vereinzelt ähnliche vesikuläre Strukturen wie im ausgeprägten Zygotän beschrieben.

Primäre Spermatozyten im Pachytän findet man in der Phase 3 des Keimepithelzyklus in der zweiten Zellage des Epithels (Abb.3).

Die durchschnittliche Zellgröße beträgt in diesem Stadium 14 x 12 μm . Die Zellen sind oval, und im Erscheinungsbild den zuletzt beschriebenen sehr ähnlich (Abb.20; 60).

Der Kern ist stets oval und mit einem Durchmesser von 10 x 8 μm etwas größer als bei primären Spermatozyten des frühen Pachytän (Abb.20, N). Die Kernoberfläche ist stellenweise leicht gewellt und besitzt ebenfalls viele, mit elektronenoptisch dichtem Material ausgefüllte, oft gehäuft nebeneinander auftretende Kernporen (Abb.20, $\leftarrow$). Dichte und Verteilung von Heterochromatin und Euchromatin entsprechen im wesentlichen dem der primären Spermatozyten im frühen Pachytän (Abb.20, Ec, Hc). Der durchschnittliche Heterochromatingehalt beträgt 27,2 %, bei Extremwerten von 23,2 und 32,4 %. Hervorzuheben ist, daß sich stellenweise Heterochromatin der inneren Kernmembran sehr dicht anlegt. (Abb.20, $\curvearrowright$). Neben kleinen synaptonemalen Komplexen (Abb.20, SK) findet man immer mindestens einen, häufig auch zwei, ca. 1,5 x 1 μm große, exzentrisch lokalisierte oder der Kernmembran anliegende Nukleoli (Abb.20, N1).

Das Zytoplasma und die Organellen sind ähnlich strukturiert wie bei den primären Spermatozyten im frühen Pachytän, mit Ausnahme des endoplasmatischen Retikulums, das mehr in Form kurzer, unter-

schiedlich stark erweiterter Schläuche und weniger als längere Platten konzentrisch um den Kern gruppiert ist (Abb.20, ER).

Das Golgi-Feld besteht aus vielen kleinen Membranstapeln und Vakuolen (Abb.20, G). Es liegt dem Kern eng an und erreicht eine maximale Ausdehnung von $5 \times 2 \mu\text{m}$.

Primäre Spermatozyten im späten Pachytän findet man in der zweiten Zelllage der Phase 4 des Keimepithelzyklus (Abb.4).

Die Zellen sind bei einer durchschnittlichen Größe von $15 \times 14 \mu\text{m}$ in ihrer Form isoprismatisch bis polygonal (Abb.21).

Der Zellkern ist oval, $9,5 \times 7,5 \mu\text{m}$ im Durchmesser und von einer stellenweise leicht gewellten Kernmembran begrenzt (Abb.21, N). Das Euchromatin ist geringfügig dichter granuliert als in Zellen früherer Stadien des Pachytäns. Auch das Heterochromatin tritt in stärkerer Verdichtung auf vor allem dann, wenn es mit der inneren Kernmembran in engem Kontakt steht (Abb.21, ). In den größeren Heterochromatinkondensaten sind synaptonemale Komplexe zu finden (Abb.21, SK). Der durchschnittliche Heterochromatingehalt beträgt 31,4 %, bei Extremwerten von 28 und 32,2 %. Fast immer findet man einen meist randständigen, bis zu $1,3 \mu\text{m}$ großen, hellgranulierten Chromoplast (Abb.21, Cp). Der im Schnittbild häufig anzutreffende Nukleolus schwankt in der Größe zwischen $1,5$ und $2,5 \mu\text{m}$ und ist wie der Chromoplast randständig gelegen (Abb.21, N1).

Zytoplasma und rauhes endoplasmatisches Retikulum sowie Golgi-Feld haben ein ähnliches Aussehen wie bei den primären Spermatozyten im Pachytän der Phase 3.

Besonders hervorzuheben ist, daß die Mitochondrien nur noch selten einzeln liegen (Abb.21; 22; 23, M). Sie treten vielmehr in der Regel in Gruppen von 6 bis 8 Mitochondrien auf, wobei zwischen benachbarten Mitochondrien elektronenoptisch dichtes, annähernd homogenes Material zu finden ist (Abb.21; 22; 23; IZ). Die Mitochondrienmembran erscheint dabei unverändert.

Während sog. multivesikuläre Körper im frühen Pachytän und Pachytän nur selten, möglicherweise in Vorstufen auftreten, sind sie im späten Pachytän fast immer zu finden (Abb.22, MK). Es handelt sich dabei um bis zu $1,2\text{ }\mu\text{m}$ große, runde, meist membranumgrenzte Zelleinschlüsse, die in der Regel ohne bestimmte Lagebeziehung zu anderen Organellen unregelmäßig verteilt im Zytoplasma liegen. Der Inhalt dieser Körper besteht entweder aus dicht gepackten, elektronenoptisch mäßig dichten Granula oder kleinen Vesikeln, deren Membranen im späten Pachytän meist elektronenoptisch hell, in späteren Teilungsstadien auch dunkler sind.

Weiterhin findet man erstmals sog. Lamellenkörperchen (Abb.21, Lk). Es handelt sich hierbei um $0,2$ bis $0,3\text{ }\mu\text{m}$ große, aus 4 bis 5 elektronenoptisch sehr dichten eng gepackten Membranlamellen bestehende Strukturen, die meist einzeln, seltener gehäuft, regellos im Zytoplasma verteilt liegen.

Primäre Spermatozyten im Diplotän findet man in der dritten Zellage der Phase 5 und 6 des Keimepithelzyklus (Abb.5, 6).

Die Zellen haben eine durchschnittliche Größe von $15 \times 13\text{ }\mu\text{m}$ (Abb.24; 60). Ihre Form ist isoprismatisch bis polygonal. In der Phase 5 sind sie noch vielfach etwas gegeneinander versetzt, während sie in der Phase 6 eine einheitlich einschichtige Zellage bilden. Dadurch sind die der Basalmembran naheliegenden primären Spermatozyten im Leptotän streng von den lumenwärts gelegenen Spermatiden zu trennen. Sie heben sich durch ihr insgesamt elektronenoptisch dunkles Erscheinungsbild deutlich von den hellen primären Spermatozyten im Leptotän ab.

Die Zellkerne haben einen Durchmesser von ca. $11 \times 8,5\text{ }\mu\text{m}$ (Abb.24, N). In der Phase 5 sind sie oval, teilweise mit flachen Einbuchtungen, während sie in der Phase 6 ein ovales, häufig fast rundes Schnittbild zeigen. Sehr charakteristisch für das spätere Diplotän der Phase 6 sind lang ausgezogene Heterochromatinkondensate von hoher elektronenoptischer Dichte, die in meist regel-

mäßigen Abständen der inneren Kernmembran anliegen (Abb.24, ). In diesem Teilungsstadium beginnen sich die zentralgelegenen Heterochromatinverdichtungen zu verkleinern und aufzulockern. Gleichzeitig nimmt die Granulierung des Euchromatins zu. Der durchschnittliche Heterochromatingehalt beträgt 22,4 %, bei Extremwerten von 18,7 und 25 %.

Vielfach findet man einen randständigen, bis zu 1,5 μm großen, hellen und feingranulierten Chromoplast, der von einem elektronenoptisch hellen Hof umgeben ist (Abb.26, Cp).

Der randständige Nukleolus ist in der Regel rund und erreicht einen Durchmesser von bis zu 1,8 μm . Er ist jedoch im Schnittbild nicht immer nachweisbar.

Das Zytoplasma ist feinflockig und entspricht in der Dichte dem primärer Spermatozyten im späten Pachytän.

Die Mitochondrien liegen fast ausschließlich in Gruppen zusammen (Abb.24; 25; 26, M). Die Masse der intermitochondrialen Zwischen substanz hat weiter zugenommen (Abb.24; 25; 26, IZ).

Das endoplasmatische Retikulum findet man zuweilen in Form kleiner, unterschiedlich stark erweiterter Vesikel, aber vielfach als 3 bis 4 μm lange Schläuche (Abb.24, ER). Diese liegen in mehreren Schichten, mit regelmäßigen Abständen von ca. 0,2 μm zueinander, parallel zur Kernmembran.

Das Golgi-Feld besteht aus mehreren Lagen halbkreisförmig angeordneter Stapel von Säckchen und Vesikel (Abb.24, G). Sein Durchmesser beträgt durchschnittlich 2,5 μm . Er liegt in enger Nachbarschaft zum Kern. Im Zentrum eines Golgi-Feldes kann im Schnittbild zuweilen ein Zentriol nachgewiesen werden (Abb.24, Z).

Wie im späten Pachytän treten auch im Diplotän multivesikuläre Körper und Lamellenkörperchen auf, wobei letztere teilweise gehäuft vorliegen (Abb.26, Lk).

Primäre Spermatozyten in der Diakinese findet man in der dritten Zelllage der Phase 7 des Keimepithelzyklus (Abb.7).

Es handelt sich um ca. $15 \times 14 \mu\text{m}$ große, isoprismatische oder polygonale Zellen, die den primären Spermatozyten im Diplotän strukturell stark ähneln (Abb.27; 60).

Der Zellkern hat eine durchschnittliche Größe von $10,5 \times 8,5 \mu\text{m}$ und ist oval. Wie im vorhergehenden Stadium ist das Euchromatin, in das elektronenoptisch mäßig dichte Heterochromatinaggregate eingestreut sind, verdichtet. Stark verdichtetes Heterochromatin berührt längere Abschnitte der inneren Kernmembran und verleiht dem Zellkern damit in seiner Peripherie erhöhte elektronenoptische Dichte (Abb.27, ). Der durchschnittliche Heterochromatingehalt beträgt 28,3 %, bei Extremwerten von 27,7 und 29,4 %. Wie im Diplotän so findet man auch in der Diakinese einen großen, randständigen Nukleolus (Abb.27, N1), in wenigen Fällen einen Chromoplast und vereinzelt in den größeren Heterochromatinaggregaten synaptonemale Komplexe.

Zytoplasma und Zellorganellen bieten ein ähnliches Bild wie im Diplotän. Bemerkenswert ist, daß sich in der Diakinese die elektronenoptisch dichte, homogene intermitochondriale Zwischensubstanz der Mitochondrien-Gruppen am weitesten entwickelt darstellt (Abb.27, 1Z).

Neben unregelmäßig geformten, membranbegrenzten, hellen multivesikulären Körpern (Abb.27; 28, MK) findet man auch kugelförmige membranlose Gebilde von ca. $1 \mu\text{m}$ Durchmesser, die eine geringgradige elektronenoptische Dichte und eine wabige Innenstruktur aufweisen (Abb.28, Sat).

3.3.3. Sekundäre Spermatozyten

Neben den Teilungsstadien der primären Spermatozyten, die sich der meiotischen Prophase anschließen, findet man in der Phase 8 des Keimepithelzyklus auch sekundäre Spermatozyten. Diese liegen in

der dritten Zellage des Epithels lumenwärts der primären Spermatozyten im Stadium des Zygotäns (Abb.9).

Es handelt sich dabei um dunkle, annähernd isoprismatische Zellen mit einer Seitenlänge von etwa 15 bis 18 μm (Abb.29; 60).

Der ovale bis runde Kern hat einen durchschnittlichen Durchmesser von 11 x 8,5 μm (Abb.29, N). Er ist damit kleiner als der Kern primärer Spermatozyten während der Diakinese. Während die innere Kernmembran glatt verläuft, ist die äußere unregelmäßig gewellt, so daß der Membranspalt Weiten von bis zu 1500 Å annehmen kann. Dies ist eine Erscheinung, die andeutungsweise schon bei primären Spermatozyten in der Diakinese auftritt und auch später, während der Entwicklung männlicher Germinativzellen, bei den Spermatiden zu Beginn der Spermatohistogenese noch festzustellen ist.

Das Euchromatin ist relativ dicht granuliert. Kleinere und mittel-große, lockere Heterochromatinaggregate sind im Nukleoplasma verstreut. Einige stehen in engem Kontakt zur inneren Kernmembran (Abb.29, ). Sie erscheinen dann elektronenoptisch heller als entsprechende Abschnitte primärer Spermatozyten im Diplotän und während der Diakinese. Der durchschnittliche Heterochromatingehalt beträgt 15,6 %, bei Extremwerten von 13,5 und 18,2 %. Synaptonemale Komplexe und Chromoplasten treten nicht auf. Ein dunkler, 1,2 bis 1,5 μm großer, exzentrisch gelegener Nukleolus kann stets nachgewiesen werden (Abb.29, N1).

Das Zytoplasma sekundärer Spermatozyten ist das elektronenoptisch dichteste aller bisher beschriebenen Zellen der Spermatogenese. Auch findet man bei dieser Zellform eine maximale Häufung von Organellen innerhalb der Spermatogenese.

Dies betrifft vor allem das endoplasmatische Retikulum (Abb.29, ER). Es ist nur schwach mit Ribosomen besetzt und besteht im kernnahen Bereich aus kleineren Vesikeln und längeren Säckchen. Nahe des Plasmalemmas können 2 bis 3 μm lange Platten beobachtet werden, die

häufig in bis zu 10 Schichten, in regelmäßigen Abständen und parallel zur Zelloberfläche liegen. Der Gehalt an Mono- und Polyribosomen ist gegenüber früheren Differenzierungsstadien unverändert.

Ein 1,5 bis 2 μm großes Golgi-Feld liegt in Nähe des Kerns und besteht aus mehreren kleinen, eng geschichteten Membrankomplexen und Vesikeln, die vielfach quaderförmig angeordnet sind (Abb.30,G). Zudem sind, wie auch teilweise in vorausgehenden Stadien, in seiner Nachbarschaft Anhäufungen von Vesikel zu beobachten (Abb.30, MK).

Die Mitochondrien-Gruppen beginnen sich aufzulösen, liegen aber noch in enger Nachbarschaft zueinander im Zytoplasma (Abb.29, M). Selten sind sie durch elektronenoptisch dichtes Material untereinander verbunden (Abb.29, IZ). In der Nähe dieser Organellen findet man erstmals sog. Chromatoid-Körper, elektronenoptisch dichte, homogene, unterschiedlich geformte Einschlüsse, deren Material der intermitochondrialen Zwischensubstanz ähnlich ist (Abb.29, 30, CK).

Wie in den vorausgegangenen Teilungsstadien der primären Spermatozyten findet man auch hier elektronenoptisch helle und dunkle multivesikuläre Körper sowie ca. 1 μm große, runde aufgelockerte Gebilde mit wabiger Struktur ohne Membranbegrenzung. Lamellenkörperchen können nicht nachgewiesen werden.

3.4. Ultrastrukturelle Befunde zur Spermatohistogenese

Spermatiden findet man in allen 8 Phasen des Keimepithelzyklus. In den Phasen 1 bis 3 kommen zwei verschiedene Spermatidengenerationen vor: In der dritten Zelllage des Epithels junge Spermatiden während der Golgi-Phase, in der vierten Zelllage Spermatiden der älteren Generation während der Reifungs-Phase.

Die Spermatohistogenese läßt zwischen der Golgi-, Kappen-, Akrosom- und Reifungs-Phase fließende Übergänge erkennen, die keine genaue Zuordnung zu definierten Entwicklungsschritten erlauben. Dennoch führt eine Häufung übereinstimmender Strukturmerkmale zu einer systematischen Gruppierung der einzelnen Reifestadien.

3.4.1. Spermatiden der Golgi-Phase

Spermatiden der Golgi-Phase findet man in den Phasen 1 bis 3 des Keimepithelzyklus (Abb.1; 2; 3).

Spermatiden in der Phase 1 stehen am Beginn der Spermatohistogenese, weshalb diese frühe Golgi-Phase auch als Initial-Phase bezeichnet wird (Abb.31; 32; 61).

Diese Zellen kennzeichnet eine isoprismatische bis polygonale Form mit einer Seitenlänge von 7 bis 11 μm .

Der Kern ist oval bis rund mit einem mittleren Durchmesser von 5 bis 6 μm und liegt im Zentrum der Zelle (Abb.31; 32, N). Das Nukleoplasma ist gleichmäßig grob granuliert, lediglich an der inneren Kernmembran kommt es zu einer schwachen Verdichtung von ca. 200 bis 300 Å großen Heterochromatingranula. Größere Heterochromatinaggregate, ähnlich denen bei primären und sekundären Spermatozyten, sind kaum noch zu finden. Wie bei sekundären Spermatozyten verläuft die innere Kernmembran glatt, während die äußere unregelmäßig gewellt ist. Zwischen den beiden Blättern der Kernmembran beträgt der Spaltraum bis zu 1500 Å. Charakteristisch für die Spermatiden der Initial-Phase sind meist zwei oder drei elektronenoptisch auffallend dichte Nukleoli (Abb.31, N1). Sie sind rund, exzentrisch oder wandständig gelegen und erreichen einen

Durchmesser von 0,7 bis 1,1 μm . Stellenweise ist eine deutlich abgesetzte Pars amorpha zu beobachten.

Ähnlich wie bei sekundären Spermatozyten haben die neugebildeten Spermatiden ein dichtes, feinflockiges Zytoplasma. Sie besitzen zahlreiche Organellen.

Die Mitochondrien liegen meist einzeln oder paarweise und haben einen Durchmesser von ca. 0,5 μm (Abb.31; 32, M).

Das endoplasmatische Retikulum besteht vereinzelt aus 2 bis 3 μm langen, teilweise parallel zum Plasmalemm geschichteten Platten, in der Mehrzahl aber aus 0,5 bis 1 μm langen und 0,1 bis 0,3 μm weiten Säckchen, deren Lage keine Regelmäßigkeit aufweist (Abb.31; 32, ER). Der Ribosomenbesatz ihrer Membranen ist nur spärlich, wie auch in allen folgenden Entwicklungsstadien der Spermatohistogenese.

In der Nähe der Mitochondrien findet man auch hier Chromatoid-Körper aus sehr dunklem, annähernd homogenen Material (Abb.31; 32, CK), und meist membranbegrenzte multivesikuläre Körper aus elektronenoptisch hellem und dunklem Material (Abb.32, MK). Die dunklen multivesikulären Körper können dabei eine Größe von bis zu 1,3 μm erreichen, deren Inhalt aus stark kontrastierten Vesikeln besteht, die zum Teil sehr eng gepackt, zum Teil auch durch feinflockiges Material locker miteinander verbunden sind. Einige multivesikuläre Körper hoher elektronenoptischer Dichte weisen mehrere ca. 0,1 μm lange Tubuli auf, die radiär von der Oberfläche in das Zytoplasma einstrahlen (Abb.35).

Der 2,5 μm große Golgi-Apparat befindet sich in enger Nachbarschaft zum Spermatidenkern (Abb.32; 33, G). Neben zahlreichen dicht gestapelten Membransäckchen und Vesikeln treten erstmals zwischen Golgi-Apparat und Spermatidenkern meist zwei bis drei unregelmäßig geformte, membranbegrenzte proakrosomale Vesikel auf, die elektronenoptisch leer erscheinen und eine Größe von 0,2 bis 0,5 μm erreichen (Abb.33, paV). Auffällig ist, daß sich bereits zu einem

Zeitpunkt, in dem die Vesikel noch keinen direkten Kontakt zur Kernmembran aufweisen, in ihren benachbarten Bereichen unmittelbar unter der inneren Kernmembran, Chromatingranula vermehrt anlagern (Abb.33, ) .

In der Phase 2 des Keimepithelzyklus schließen sich die Spermatiden während der ausgeprägten Golgi-Phase der Zellage primärer Spermatozyten im Stadium des frühen Pachytän an. Während sie in der Initial-Phase einen noch scheinbar ungeordneten Zellverband bilden, findet man sie nun nahezu regelmäßig säulenartig angeordnet, wobei durch hohe Ausläufer der Sertolizellen mehrere dieser Zellsäulen zu Komplexen von Spermatiden zusammengefaßt werden (Abb.2). Dabei treten insbesondere in der Phase 2, weniger in den anderen Phasen des Keimepithelzyklus, echte Zellbrücken in Erscheinung, die benachbarte Spermatiden untereinander verbinden (Abb.36, ) . Es können dabei Zellketten, bestehend aus bis zu 5 Spermatiden beobachtet werden. Die Zellbrücken stehen gehäuft in der Radiärrihtung zum Tubulusepithel, während sie in der Zirkulärrihtung seltener zu finden sind. Sie weisen eine lichte Weite von 1 bis 2 μm auf. Größere Zellbrücken schließen vereinzelt Mitochondrien oder rauhes endoplasmatisches Retikulum ein. Der Interzellularspalt benachbarter Spermatiden beträgt in der Regel höchstens 0,1 μm , vergrößert sich jedoch im Bereich der Zellbrücken auf 0,2 bis 0,6 μm . Zudem ist auffällig, daß sich das Plasmalemm an dieser Stelle auf das drei- bis vierfache seiner normalen Stärke verdickt.

Das Zytoplasma der Spermatiden während der ausgeprägten Golgi-Phase ist im Vergleich zu dem der Spermatiden der Initial-Phase unverändert (Abb.36; 61).

Die Mitochondrien liegen einzeln oder paarweise häufig in der Nähe der äußeren Kernmembran. Das endoplasmatische Retikulum besteht im kernnahen Bereich meist aus unregelmäßig angeordneten ca. 0,2 μm weiten Säckchen und Vesikeln, während es im Randbereich der Zellen mehr in Form von Platten vorliegt. Bis zu zehn dieser Platten liegen in pyramidenförmiger Schichtung, mit einem mittleren Abstand

von $0,2\text{ }\mu\text{m}$ zueinander. Sie verlaufen vorwiegend parallel zum Plasmalemm. Die Basis dieser Pyramide, mit einer Länge von bis zu $5\text{ }\mu\text{m}$ liegt dem Zellrand an. Zum Zellzentrum hin verjüngt sich dieser Membranstapel auf $0,5$ bis $1,5\text{ }\mu\text{m}$, um in Kernnähe in ein weitgehend säckchenförmiges endoplasmatisches Retikulum überzugehen. Bemerkenswert ist zudem, daß die Enden dieser Organellen fast immer beulenartig aufgetrieben sind. Im Spitzenbereich der Pyramide treten an den freien Enden vermehrt zahlreiche Vesikel unterschiedlicher Größe auf.

Der Kern der Spermatiden während der ausgeprägten Golgi-Phase ist oval bei einer Größe von durchschnittlich $6,5 \times 5\text{ }\mu\text{m}$ (Abb.36, N). Er liegt meist exzentrisch innerhalb der Spermatide, und unterscheidet sich im Aussehen des Nukleoplasmas und der Verteilung der Chromatingranula nicht wesentlich von den zuvor beschriebenen Differenzierungsstadien. Vielfach sind noch ein bis zwei leicht exzentrisch gelegene oder randständige, ca. $1,5\text{ }\mu\text{m}$ große, runde Nukleoli zu finden, die sich auf Grund ihrer Dichte deutlich vom umgebenden Nukleoplasma abheben (Abb.36, N1).

Weitergehende Strukturveränderungen findet man dagegen am Golgi-Apparat, der eine maximale Größe von bis zu $3,5\text{ }\mu\text{m}$ erreicht (Abb.36; 38, G). Wie im vorausgehenden Stadium besteht er aus Feldern 300 bis $500\text{ }\text{\AA}$ enger und $0,5$ bis $0,8\text{ }\mu\text{m}$ langer, schlüsselförmiger Säckchen und Tubuli, die mehrere kleine und mittelgroße proakrosomale Vesikel und meist eine große Akrosomenvakuole umschließen. Während die proakrosomalen Vesikel elektronenoptisch leer erscheinen, ist die Akrosomenvakuole mit lockerem Material gefüllt, das an der Membraninnenseite geringgradig verdichtet vorliegt (Abb.36; 38; 39, AV). Stellenweise umschließt die Akrosomenvakuole, die in der Phase 2 des Keimepithelzyklus einen Durchmesser von bis zu $2\text{ }\mu\text{m}$ erreicht, schalenartig ein kleineres proakrosomales Vesikel, wodurch sie im Sagittalschnitt eine Hufeisenform erhält, während im Transversalschnitt ein Bild entstehen kann, als ob innerhalb der Akrosomenvakuole ein proakrosomaler Vesikel liegen würde (Abb.36; 39, AV, paV).

Weiterhin zeichnet sich die Akrosomenvakuole durch ihre Lagebeziehung zum Spermatidenkern aus. Sie befindet sich fast ausnahmslos an einer Längsseite des ovalen Kerns, mithin in einem Bereich, in dem die Krümmung der Kernmembran relativ gering ist (Abb.36, AV). Sie entsteht stets in unmittelbarer Nähe zur äußeren Kernmembran. Zwischen ihr und der Membran der Akrosomenvakuole besteht ein Spaltraum von nur 200 bis 300 Å, der von hellem, feingranulären Material ausgefüllt ist. Die äußere Kernmembran, die durch ihre starke und unregelmäßige Undulierung im gesamten übrigen Kernbereich einen unterschiedlich weiten, bis zu 1000 Å großen Kernspaltraum begrenzt, verläuft im Kontaktbereich zwischen Spermatidenkern und Akrosomenvakuole glatt, der Membranspalt ist auf ca. 100 Å verengt. In diesem Bereich ist die Kernmembran in Richtung auf das Kernzentrum flach eingezogen und erscheint zudem an der inneren Kernmembran durch eine ca. 400 Å dicke, verdichtete Lage von Chromatingranula verstärkt (Abb.39).

Am Rande eines Golgi-Feldes ist in einigen Schnittbildern ein Zentriol zu finden (Abb.37, Z).

Wie im vorausgehenden Entwicklungsstadium sind unterschiedlich große Anteile des Chromatoidkörpers zu beobachten, 0,2 bis 1,2 µm große, unregelmäßig geformte Komplexe elektronenoptisch sehr dichten Materials. Vielfach liegen sie regellos im Zytoplasma, nicht selten aber auch in Nähe des Golgi-Apparates (Abb.37; 38, CK).

Elektronenoptisch helle und dunkle multivesikuläre Körper findet man häufig eng vergesellschaftet mit den Chromatoidkörpern (Abb.37; 38, MK). Während der größte Teil vollständig von ca. 300 Å großen Vesikeln ausgefüllt ist, sind auch 0,3 bis 0,7 µm große Vakuolen anzutreffen, in denen entweder nur einzelne Bereiche der Innenwand von Vesikeln besetzt sind oder kegelförmige Vesikelaggregate in das Innere der Vakuole hineinragen. Im übrigen erscheinen die Vakuolen elektronenoptisch leer oder sind mit feinem, flockigen Material ausgefüllt (Abb.41).

In der Phase 3 des Keimepithelzyklus findet man lumenwärts der primären Spermatozyten im Pachytän Zellsäulen von Spermatiden im Endstadium der Golgi-Phase. Daneben können auch Stadien der ausgeprägten Golgi-Phase vorkommen sowie Spermatiden, die in ihrer Entwicklung schon am Übergang zur Kappen-Phase stehen (Abb.3; 40; 61).

Ihr meist exzentrisch gelegener Zellkern weicht in seinem Erscheinungsbild vom vorher beschriebenen Stadium nur insofern ab, als häufig nur noch ein kleiner, randständiger Nukleolus zu finden ist. Dieser zeigt im Endstadium der Golgi-Phase durch Auflockerung seiner zuvor elektronendichten Struktur Anzeichen einer beginnenden Lysis (Abb.40, N1). Hinsichtlich der Dichte und Verteilung der Chromatingranula ist keine Veränderung festzustellen.

Das endoplasmatische Retikulum ist durch eine Auflösung seiner pyramidenförmig geschichteten Platten gekennzeichnet. Wie schon im vorausgehenden Stadium beginnend, schreitet die beulenartige Auftreibung der Plattenenden weiter fort. Die Platten lösen sich in 0,5 bis 1 μ m kurze Membransäckchen auf (Abb.40, ER).

Eine wesentliche Weiterentwicklung der Spermatiden findet man im Bereich der Akrosomenanlage und des Golgi-Apparates.

Die Akrosomenvakuole erreicht eine Größe von bis zu 3 x 2 μ m. Gleichzeitig erweitert sich auch die Kontaktfläche zum Spermakern (Abb.40; 42, AV). Der Gehalt des feinflockigen Vakuoleninhalts steigt an, um sich an der tiefsten Stelle der den Spermakern einbuchtenden Vakuole in Form eines ca. 0,3 μ m großen, elektronenoptisch dichten Aggregats, dem Akrosomengranulom zu sammeln. An dieser Stelle ist die Kern- und Vakuolenmembran häufig nochmals weiter in Richtung auf das Kernzentrum eingedellt (Abb.40; 42, AG). Der mit homogenem Material gefüllte Spaltraum zwischen äußerer Kernmembran und Vakuolenmembran bleibt gleichbleibend etwa 300 Å breit.

Am Ende der Golgi-Phase stehen Kern und Akrosomenvakuole über eine kreisförmige Fläche mit einem Durchmesser von ca. 2,5 bis 2,8 μm in Kontakt. In diesem Stadium erreicht die Akrosomenvakuole eine Höhe von 1,8 bis 2 μm . Ab diesem Zeitpunkt flacht die Vakuole mit zunehmender Erweiterung der Kontaktfläche unter geringgradiger Verdichtung ihres feinflockigen Inhalts ab. Spermatiden in diesem Stadium der Spermatohistogenese stehen schon am Übergang von der späten Golgi-Phase zur frühen Kappen-Phase (Abb.43). Dabei scheint die Ausdehnung der Kontaktfläche zwischen Kern und Akrosomenvakuole nicht direkt an der Oberfläche der Kernmembran abzulaufen, sondern vielmehr von ca. 0,2 μm langen, zipfelförmigen Ausläufern der Vakuolenmembran auszugehen, die sich etwa 0,2 μm über der äußeren Kernmembran über diese schieben (Abb.42, ).

Der Golgi-Apparat hat am Ende der Golgi-Phase eine Ausdehnung von 3 bis 4 μm (Abb.40, G). Proakrosomale Vesikel treten nur noch selten auf. Mit Beginn der frühen Kappen-Phase verlagert er sich mehr auf die Seite der Akrosomenvakuole, um sich im weiteren Verlauf der Entwicklung, zusammen mit den Zentriolen, auf die der Akrosomenanlage gegenüberliegenden Kernseite zuzubewegen (Abb.43, G).

Auch in diesem Entwicklungsstadium findet man multivesikuläre und Chromatoid-Körper, letztere häufig in enger Nachbarschaft zur Akrosomenvakuole und zum Golgi-Apparat (Abb.40; 41; 43, MK).

3.4.2. Spermatiden der Kappen-Phase

Die Phase 4 des Keimepithelzyklus beginnt mit dem Zeitpunkt, zu dem die fertig entwickelten Spermien den Tubulusepithelverband verlassen haben. Die lumenseitige Zelllage wird nun von Spermatiden gebildet, die sich in der Kappen-Phase der Spermatohistogenese befinden (Abb.4; 44; 61).

Obwohl die Spermatiden nach wie vor durch Zellbrücken untereinander in Verbindung stehen (Abb.44, ), ist die streng säulenartige Zellordnung, wie sie noch in der Phase 3 anzutreffen war, nicht mehr so auffallend. Die Spermatidenkerne sind noch weiter

an den Zellrand gerückt, und zwar immer mit der Akrosomenanlage voraus in Richtung auf die Tubulusperipherie. Der Abstand zwischen Akrosomenanlage und Zellmembran beträgt 0,2 bis 1 μm . Die Hauptmasse des Zytoplasmas befindet sich distal des Spermatidenkerns und erscheint langgestreckt. Auf diese Weise kommt es zu einer gleichartigen Orientierung aller Spermatiden, deren Richtung bis zum Zeitpunkt der Abgabe in das Tubuluslumen als Spermien beibehalten wird (Abb.4).

Während sich die Kerngröße gegenüber dem vorausgehenden Stadium nicht wesentlich verändert hat, sind im Nukleoplasma beginnende Kondensierungserscheinungen des Chromatins zu beobachten (Abb.44,N). Sowohl an umschriebenen Stellen der Kernmembran als auch in zentralen Kernzonen ist das Chromatin zu 400 bis 500 Å großen Granula verdichtet, die sich ihrerseits wieder zu 0,5 bis 1 μm großen, lockeren Aggregaten zusammenlagern.

Das Akrosomengranulum besteht aus sehr fein granuliertem elektrodichten Material und erreicht eine Größe von 1,3 x 0,8 μm (Abb.44; 45, AG). Es bildet eine knopfförmige Ausbuchtung an der Spitze der Akrosomenkappe, die ihrerseits die vordere Hälfte des Spermatidenkerns kappenartig überzieht (Abb.44; 45, AK). Der Abstand zwischen innerer und äußerer Akrosomenmembran beträgt im Durchschnitt 1000 Å. Äußere Kernmembran und innere Akrosomenmembran begrenzen den ca. 300 Å breiten subakrosomalen Raum (Abb.45, saR). Die beiden Akrosomenmembranen begrenzen den akrosomalen Raum, der feingranuläres Material enthält. Dieses ist von ähnlicher Struktur wie das Material des Akrosomengranulums. Es ist in den Seitenzonen der Akrosomenkappe jedoch nicht so stark verdichtet wie im Spitzenbereich. Auffällig ist die weitere Verstärkung der Chromatinanlagerung an der inneren Kernmembran, die insbesondere unter der Akrosomenkappe ausgeprägt ist (Abb.45). Der Kappenrand ist wulstartig aufgeworfen und buchtet den Kern an dieser Stelle leicht ein. Im postakrosomal Bereich, häufig abrupt mit dem Ende der Akrosomenkappe, nimmt der Kerndurchmesser um mehr als 1 μm zu.

Das Diplosom ist auf der dem Akrosom entgegengesetzten Kernseite zu finden (Abb.44; 46, Z). Sein proximales Zentriol legt sich der Kernmembran eng an, die an dieser Stelle zur sog. Implantationsgrube eingebuchtet ist (Abb.44; 46, IG). Auch in diesem Bereich kommt es an der inneren Kernmembran zu einer stark vermehrten Anlagerung von Chromatingranula (Abb.46, ←).

Im Zytoplasma sind die auffälligsten Differenzierungsvorgänge am endoplasmatischen Retikulum zu beobachten, das aus zahlreichen, dicht gelagerten, runden bis ovalen Vesikeln mit einem Durchmesser von 0,2 bis 0,4 μm besteht (Abb.44, ER). Ein Ribosomenbesatz der Membranen des endoplasmatischen Retikulums ist nicht feststellbar. Golgi-Apparat und Mitochondrien findet man distal des Kerns im verlängerten Zytoplasmaanteil der Spermatide (Abb.46, G, M). Gleiches gilt in der Regel auch für die Chromatoid-Körper und multivesikulären Einschlüsse, von denen meist nur noch Vertreter des elektronenoptisch dichten Typs aufzufinden sind. Beide Organellen liegen häufig nahe des Diplosoms (Abb.46, CK, MK).

3.4.3. Spermatiden der Akrosom-Phase

Spermatiden in der Akrosom-Phase findet man in den Phasen 5 bis 7 des Keimepithelzyklus. Sie liegen dabei meist bündelartig in den Zytoplasmaausläufern der Sertolizellen, die sich dem Spermatidenkern sehr eng anlegen (Abb.5; 6; 7).

In der Phase 5 des Keimepithelzyklus kommt es zu charakteristischen Formveränderungen des Spermatidenkerns. Er wird walzenförmig, seine Länge beträgt 5 bis 8 μm , sein Querdurchmesser 1,7 bis 2,8 μm . Die breiteste Stelle des Kerns ist immer in der Nähe der Kernspitze zu finden (Abb.47, N; 61).

Das Akrosom bedeckt die vorderen zwei Drittel des Spermatidenkerns mit einer 600 bis 700 Å dicken Kappe (Abb.47, A). Zwischen innerer Akrosomenmembran und äußerer Kernmembran besteht ein ca. 300 Å breiter subakrosomaler Raum, der mit elektronenoptisch dichtem, feingranulären Material gefüllt ist. An der Spitze des

Kerns bildet das Akrosom einen ovalen oder dreieckigen, beulenartigen Fortsatz, der bis zu $1,4\text{ }\mu\text{m}$ lang und $1\text{ }\mu\text{m}$ breit werden kann (Abb.47, 48, Ap). Bis auf die Randbereiche direkt unter der äußeren Akrosomenmembran, ist der Fortsatz mit sehr dicht gepacktem Akrosomenmaterial gefüllt. Das Akrosom endet in einem perinukleären Randwulst von $0,2$ bis $0,3\text{ }\mu\text{m}$ Dicke. Unter diesem findet man in der Regel zusätzlich eine ringförmige Einbuchtung der Kernmembran, wodurch sich der subakrosomale Raum an dieser Stelle auf ca. 600 Å verbreitert.

Während die Kernmembran unter dem Akrosom glatt ist, verläuft sie im postakrosomalen Kernbereich meist gewellt. Auch erscheint sie unter dem Akrosom und an der Implantationsgrube verstärkt.

Die Kondensation des Chromatins ist deutlicher als im vorausgegangenen Entwicklungsstadium. Die Chromatingranula erreichen eine Größe von bis zu 1000 Å . Sie lagern sich einerseits verstärkt der inneren Kernmembran unter dem Akrosom und der Implantationsgrube an, andererseits bilden sie im Kerninneren, zusammen mit flockigem Kerninhalt, viele kleinere und dichte Chromatinaggregate. Diese liegen im über weite Flächen elektronenoptisch fast leer erscheinenden Kern diffus verstreut. Im postakrosomalen Kernbereich lagern Chromatinverdichtungen, eine deutlich konturierte Grenzlinie bildend, im Abstand von $0,1$ bis $0,2\text{ }\mu\text{m}$ von der inneren Kernmembran entfernt, und bilden somit innerhalb des Kerns einen chromatinfreien Raum (Abb.47; 49; 50, X). Die Anfangs- und Endpunkte dieser abgelösten Chromatinsäule findet man am distalen Rand des perinukleären Randwulstes des Akrosoms und an den seitlichen Rändern der Implantationsgrube. An diesen Stellen kommt es zu einem kontinuierlichen Übergang in die schon erwähnten Chromatinanlagerungen an der inneren Kernmembran.

Im proximalen Kernbereich, von der Spitze des Akrosomenfortsatzes bis zum Ende des Akrosoms ist der Spermatidenkern auf 150 bis 200 Å an die Zellmembran herangerückt und tief in die Ausläufer der Sertolizellen eingeschoben. Auf diese Weise findet man mehrere eng aufeinanderfolgende Membranen und Spalträume (Abb.48): Zunächst die

Zellmembran der Sertolizelle, auf die im Abstand von 150 Å die Zellmembran der Spermatide folgt. Unter dieser liegt wiederum im Abstand von 150 Å die äußere Akrosomenmembran, auf die der 600 bis 700 Å, im Bereich des Akrosomenfortsatzes bis zu 1,4 µm, breite akrosomale Raum folgt, der nach innen durch die innere Akrosomenmembran begrenzt wird. Anschließend folgt der 300 Å breite subakrosomale Raum, und auf diesen die äußere und innere Kernmembran. Diese Membranschichtung ist im Akrosomenbereich der Spermatide bis zum Ende der Spermatohistogenese anzutreffen.

Im Zytoplasma, das den postakrosomalen Anteil des Kerns umgibt, findet man zu Beginn der Akrosom-Phase die sog. Manschette als vorübergehenden Zellbestandteil, die, etwa gleichzeitig mit dem Abschluß der Akrosom-Phase und Beginn der Reifungs-Phase, wieder verschwindet (Abb.47; 49; 50, Ma). Sie besteht aus einer Vielzahl ca. 200 Å dicker, parallel zueinander verlaufender Tubuli, die im Abstand von 200 bis 300 Å aneinander liegen und eine manschettenartige, 0,2 bis 0,3 µm dicke Hülse um den distalen Abschnitt des Kerns bilden. Diese hat weder mit der Kernmembran noch mit dem Plasmalemm Kontakt. Die Manschette entspringt in einem ringförmigen, perinukleären Wulst, der sich ca. 0,15 µm unter dem Ringwulst des distalen Akrosomenendes befindet. Die Plasmamembran der Spermatide behält dabei den engen Kontakt zum Kern bei, den sie im Akrosomenbereich zeigt, bis zum distalen Rand des Anfangswulstes der Manschette. Die Folge davon ist eine ringförmig um den Kern laufende, ca. 0,2 µm tiefe Rinne, deren obere Begrenzung durch den distalen Rand des perinukleären Ringwulstes des Akrosoms, und deren untere Begrenzung durch den proximalen Rand des Anfangswulstes der Manschette gebildet wird. Das Ende der Manschette befindet sich 1,2 bis 1,3 µm distal des Endes des Spermatidenkerns, wo sie im Zytoplasma blind endet. Sie umhüllt somit noch den Halsbereich der Spermatide mit dem Zentriolarapparat. Die Tubuli der Manschette verlaufen in Form einer Helix, so daß im Ultradünnschnitt die einzelnen Tubuli meist nur über eine kurze Strecke von 1,5 bis 2 µm zu verfolgen sind.

Im Halsbereich der Spermatide entwickelt sich der Geißelapparat (Abb.49; 50).

Das 0,4 μ m lange proximale Zentriol liegt in einer Vertiefung der Kernmembran, der sog. Implantationsgrube. Der Raum zwischen Kernmembran und proximalen Zentriol wird, wie schon in der Kappen-Phase, durch die Basalplatte, eine elektronenoptisch sehr dichte, lamellenartige Materialverdichtung, in zwei übereinanderliegende, ca. 350 Å breite Spalträume getrennt, die mit mäßig dichtem, feingranulären Material gefüllt sind (Abb.49; 50, Bp). Sowohl die innere als auch die äußere Kernmembran sind im Bereich der Implantationsgrube sehr stark kontrastiert und auf ca. 150 Å verdickt. Dies gilt besonders für die äußere Kernmembran, die, durch dichte Anlagerungen von dem in der Implantationsgrube befindlichen Material, eine Stärke von ca. 250 Å erreicht.

Direkt unter dem proximalen Zentriol liegt, im rechten Winkel dazu, das distale Zentriol, das ebenfalls 0,4 μ m lang ist. Es entläßt an seinem distalen Ende die Schwanzfibrillen (Abb.49; 50, Fl). Letztere verlaufen nur noch eine kurze Strecke innerhalb der Zelle, um sie dann, überzogen von einem dünnen Plasmasaum und der Plasmamembran, durch eine ringförmige Einziehung, dem späteren Anulus oder Schlußring, seitlich zu verlassen. Begrenzt wird diese Stelle durch einen dunklen ca. 600 Å dicken Ring, dem sich seinerseits eine Anhäufung lockeren, grobgranulären Materials von außen anlagert (Abb.49, An).

In einem späteren Entwicklungsstadium, findet man unter der Basalplatte einen quergestreiften Körper, der als sog. Verbindungsstück den Bereich zwischen distalem Zentriol und Basalplatte überbrückt (Abb.50, Vs). Es handelt sich dabei um ein elektronenoptisch dichtes, spitz zulaufendes, pyramidenförmiges Organell, das mit seiner Basis an der membranartigen Verdichtung im Spaltraum zwischen äußerer Kernmembran und proximalem Zentriol auf einer Strecke von ca. 0,3 μ m ansetzt. Im weiteren Verlauf verschließt es die mediale Öffnung des proximalen Zentriols und legt sich dann von außen dem distalen Zentriol an. Die Dicke des Verbindungsstücks beträgt hier nur noch 500 bis 600 Å. Durch eine helle Querstreifung von 100 Å Dicke wird es in 12 gleichmäßige, elektronenoptisch sehr dichte, ca. 430 Å starke Abschnitte gegliedert.

In beiden Entwicklungsstadien findet man an der Wand des distalen Zentriols einen halbmondförmigen, etwa $0,3 \mu\text{m}$ großen Körper aus feingranulärem Material (Abb.49; 50, ).

In der Phase 6 des Keimepithelzyklus treten Spermatiden auf, die sich in der ausgeprägten Akrosom-Phase der Spermatohistogenese befinden (Abb.6).

Während in der Phase 5 der Spermatidenkern in Walzenform vorlag, beginnt in diesem Stadium die Abflachung, die gleichmäßig über die ganze Länge des Spermatidenkerns abläuft (Abb.51; 52; 61). Gleichzeitig ist das Zytoplasma weit in Richtung auf das Tubuluslumen abgedrängt. Einzelne Zytoplasmaanteile werden durch Ausläufer von Sertolizellen von der Zelle als sog. Residual-Körper abgeschnürt.

Im selben Maß, in dem sich der Kern abflacht, kommt es auch zu einer weiteren Kondensierung des Chromatins, in dem die einzelnen Chromatinaggregate näher aneinanderrücken und die hellen, chromatinfreien Räume im Kerninneren schrumpfen. Dies gilt jedoch nicht für den chromatinfreien Raum im postakrosomalen Kernbereich zwischen innerer Kernmembran und der Grenze der Chromatinaggregate. Dieser Raum vergrößert sich auf bis zu $0,4 \mu\text{m}$, und die Membran am distalen Ende des Kerns kann zusätzlich bis zu $1 \mu\text{m}$ langen Zipfeln ausgezogen sein (Abb.51, X).

In dieser Phase ist zuweilen ein sog. Zentriolaranhang vorzufinden (Abb.51, Za). Es handelt sich dabei um einen $1,3 \mu\text{m}$ langen Fortsatz des proximalen Zentriols. Er beginnt mit kontinuierlichem Übergang am seitlichen Ende des Zentriols und bildet aus nebeneinanderliegenden, parallel verlaufenden Fibrillen eine Röhre, die, am Ende verschlossen, geradlinig in das Zytoplasma ragt. Im Gegensatz zum Zentriol, das helles, feingranuläres Material enthält, ist der Anhang elektronenoptisch fast leer und weist zudem eine helle, regelmäßige Querstreifung auf. Auch die Wandstärke des Anhangs ist mit ca. $450 \text{ \AA}$ geringer als die des proximalen Zentriols.

Auch in diesem Stadium findet man in der Nähe der Zentriolen einen elektronenoptisch dichten, kugeligen oder ringförmigen Körper, der mit Hilfe eines kleinen Stiels direkten Kontakt zu einem Zentriol aufnehmen kann (Abb.51, ).

Die Spermatiden der Phase 7 des Keimepithelzyklus befinden sich im Endstadium der Akrosom-Phase (Abb.7; 53; 61).

Die dorsoventrale Abflachung des Kerns hat weiter zugenommen. Der Kern hat eine Länge von 8,5 bis 9 μm und eine durchschnittliche Dicke von 0,8 μm . Das Chromatin hat sich soweit verdichtet, daß der ganze Kern ein gleichmäßiges grobgranuläres Aussehen erhält. Lediglich im postakrosomalen Bereich besteht noch entlang der inneren Kernmembran ein chromatinfreier Raum von ca. 0,1 μm Breite (Abb.53).

Die vorderen zwei Drittel des Kerns werden vom Akrosom umhüllt, dessen innere Akrosomenmembran fast glatt und im Abstand von 500 Å, parallel zur Kernmembran verläuft, während die äußere Akrosomenmembran sowie das eng anliegende Plasmalemm, eine unregelmäßige, leichte Undulierung aufweisen. Die Breite des akrosomalen Raums beträgt 450 bis 800 Å. Apikal endet das Akrosom in einem 1 x 0,6 μm großen Fortsatz, der eine abrupt beginnende, und in die Wandbereiche des Akrosoms kontinuierlich übergehende Einziehung aufweist (Abb.52; 53, Ap). Der subakrosomale Raum ist an der Spitze des Kerns auf ca. 800 Å verbreitert und mit lockererem Material gefüllt als im übrigen Kernbereich. Die Manschette liegt der Kernmembran im postakrosomalen Bereich eng an, ist jedoch dünner und besteht nur noch aus drei bis fünf Lagen parallel verlaufender Tubuli (Abb.53, Ma). Diese entspringen, wie in den vorausgegangenen Entwicklungsstadien, einem Ringwulst unter der ringförmigen Verdickung des Akrosomenendes. Dabei können sich die beiden Wülste soweit nähern, daß sie sich oberflächlich berühren, und somit die durch sie gebildete Rinne abdecken (Abb.53, ). Seitlich, auf den Resten der Manschette, befindet sich nur noch eine 0,1 bis 0,25 μm dicke Zytoplasmalage.

3.4.4. Spermatiden der Reifungs-Phase

In den Phasen 8, 1, 2 und 3 des Keimepithelzyklus findet man Spermatiden, die sich in der Endphase der Spermatohistogenese, der Reifungs-Phase befinden. Eingebettet in die Zytoplasmaausläufer der Sertolizellen liegen sie in der Phase 8 noch sehr tief im Tubulusepithel. Im weiteren Verlauf streben sie immer weiter in Richtung auf das Tubuluslumen zu, um in der Phase 3 als strukturell ausdifferenzierte Spermien den Epithelverband zu verlassen (Abb.1; 2; 3; 8; 9;).

Die Kondensation des Chromatins ist in der Phase 8 schon fast vollständig abgeschlossen (Abb.54; 55, N; 61). Nur noch wenige lockere Areale sind im Kerninneren feststellbar. Im postakrosomalen Bereich ist der chromatinfreie Raum verschwunden, die Kernmembran liegt dem Chromatin, wie im gesamten übrigen Kernbereich eng an. Mit $7,6 \mu\text{m}$ hat der Spermatidenkern bereits seine endgültige Länge erreicht. Seine Dicke beträgt $0,33 \mu\text{m}$ zu Beginn der Reifungs-Phase; im weiteren Verlauf wird sie noch abnehmen.

Der subakrosomale Raum ist mit unterschiedlich dichtem, flockigen oder granulären Material gefüllt (Abb.55, saR). Das Akrosom, das in den Seitenbereichen eine Dicke von ca. $700 \text{ \AA}$ aufweist, enthält noch relativ lockeren, feingranulären Inhalt, und besitzt an der Spermatidenspitze eine beulenartige Verdickung, die stellenweise in Form eines $0,9 \mu\text{m}$ langen und $1,0 \mu\text{m}$ dicken, löffelfartigen Fortsatzes ausläuft (Abb.55, Ap).

Die Manschette ist vollständig verschwunden, und das Plasmalemm liegt im postakrosomalen Bereich dem Kern dicht an. Am distalen Ende des Kerns ist teilweise eine ringförmige Zytoplasmaverdichtung zu beobachten (Abb.54, ←).

Der Abstand zwischen distalen Kernende und Anulus hat sich auf eine Weite von 3 bis $5 \mu\text{m}$ vergrößert, und die Mitochondrien beginnen sich, als Bestandteil des späteren Spermien-Mittelstücks, helikal um das Flagellum zu formieren.

Während der Phase 1 des Keimepithelzyklus wird in den Spermatiden der älteren Generation der Kondensationsprozeß des Chromatins abgeschlossen (Abb.56). Gleichzeitig flacht sich der Kern weiter ab auf die endgültige Dicke von ca. $0,3 \mu\text{m}$. Der löffelfartige Fortsatz am apikalen Ende des Akrosoms ist verschwunden, und das Akrosomenmaterial verdichtet sich. Die Gesamtlänge des Akrosoms beträgt ca. $3,1 \mu\text{m}$ (Abb.56, A). Die Akrosomenspitze besteht aus einem $0,24 \mu\text{m}$ dicken Wulst, der kontinuierlich in die Seitenbereiche des Akrosoms übergeht (Abb.56, Ap). Die Dicke beträgt hier $600 \text{ \AA}$, erweitert sich jedoch kontinuierlich nach distal auf $1200 \text{ \AA}$, um in einem leichten Wulst zu enden. Der subakrosomale Raum hat eine Weite von durchschnittlich $600 \text{ \AA}$ und geht im postakrosomalen Kernbereich in einen ebenso weiten Spaltraum zwischen äußerer Kernmembran und Plasmalemm über. Beide Räume sind, bis auf den apikalen Abschnitt des subakrosomalen Raums, mit dichtem, feingranulären bis flockigen Material gefüllt, das sich im postakrosomalen Bereich an der Innenseite des Plasmalemmes verdichtet. Diese erscheint dadurch verdickt (Abb.56, saR).

Während der Phase 2 des Keimepithelzyklus kommen die Spermatiden der älteren Generation in das Endstadium der Reifungs-Phase (Abb.57). Veränderungen treten vorwiegend am Akrosom auf. Der im vorausgegangenen Stadium noch mehr längliche apikale Wulst ist abgerundet. Gleichzeitig schiebt sich die innere Akrosomenmembran, zur Bildung des Perforatoriums, pfeilspitzenartig ca. $400 \text{ \AA}$ in den Wulst vor. Die Seitenbereiche des Akrosoms weisen eine gleichbleibende Dicke von $800 \text{ \AA}$ auf, lediglich am Ende kann eine geringgradige Anschwellung vermerkt werden. Während die Akrosomenumhüllung im vorderen Kernbereich fast geradlinig verläuft, ist sie im Äquatorialbereich des Kerns stärker gewellt und weiter vom Kern abgehoben. Der subakrosomale Raum ist hier mit lockerem flockigen Material gefüllt als im vorderen Abschnitt.

Kurz vor der Abgabe in das Tubuluslumen hat das Spermium seine endgültige Form erhalten, und die Akrosomenanlage ist vollständig ausgebildet (Abb.58; 59; 61).

Ihre Länge beträgt ca. $4,8\text{ }\mu\text{m}$, bedeckt 60 % des Kerns und überragt diesen am vorderen Ende, leicht wulstig, um $0,6\text{ }\mu\text{m}$. Innerhalb dieses apikalen Wulstes begrenzt die innere Akrosomenmembran das $0,35\text{ }\mu\text{m}$ lange Perforatorium (Abb.58; 59, P). Die Seitenwände des Akrosoms können unterteilt werden in einen $2,8\text{ }\mu\text{m}$ langen und 800 Å dicken Hauptabschnitt, der sich nach distal in das $1,4\text{ }\mu\text{m}$ lange und 300 Å dicke Äquatorialsegment fortsetzt, welches in einem 600 Å breiten Randwulst endet (Abb.59, H, Äs). Der subakrosomale Raum ist mit feingranulärem, elektronenoptisch mäßig dichten Material gefüllt, das auch zwischen äußerer Kernmembran und Plasmalemm im postakrosomalen Kernabschnitt zu finden ist, allerdings in weit weniger starker Verdichtung. Lediglich an der Innenseite des Plasmalemm befindet sich eine verdichtete Zone (Abb.59, Pa).

4. Diskussion:

4.1. Einteilung der Phasen des Keimepithelzyklus

Die als Phasen des Keimepithelzyklus anzusprechenden, sich zyklisch verändernden Zustandsbilder des Tubulusepithels wurden erstmals 1952 von LEBLOND und CLERMONT bei der Ratte beschrieben. Entsprechende Untersuchungsergebnisse beim Menschen (CLERMONT 1963), beim Rhesusaffen (CLERMONT und LEBLOND 1959), bei der Maus OAKBERG 1956), beim Meerschweinchen (CLERMONT 1960), beim Kaninchen (SWIERSTRA und FOOTE 1963), beim Schwein (ORTRAVANT 1959; SWIERSTRA 1968), beim Schaf (ORTRAVANT 1959) und beim Rind (ORTRAVANT 1959; KRAMER 1960; AMANN 1962; BERCHTHOLD 1963; TIBA 1965; LEIDL 1968; BERNDSTON und DESJARDINS 1974) lassen diesen gleichartigen Ablauf der Spermatogenese allgemeingültig erscheinen.

Die in dieser Arbeit gewonnenen lichtmikroskopischen und ultrastrukturellen Untersuchungsergebnisse bestätigen dieses Prinzip für das Rind.

Für die eigenen lichtmikroskopischen Untersuchungen diene zur hinreichend sicheren Einteilung der verschiedenen Phasen des Keimepithelzyklus der variierende Gesamtaufbau des Tubulusepithels (ORTRAVANT 1959; AMANN 1962; BERCHTHOLD 1963; LEIDL 1968). Auf dieser Grundlage konnte der Keimepithelzyklus des Rindes in acht Phasen unterteilt werden. Die Ergebnisse der ultrastrukturellen Untersuchungen stimmen mit der lichtmikroskopisch vorgenommenen Phaseneinteilung überein und bestätigen die Auffassung von ORTRAVANT (1959), AMANN (1962), BERCHTHOLD (1963) und LEIDL (1968).

In Übereinstimmung mit dem bekannten Einteilungsschema nach BERCHTHOLD (1963) und LEIDL (1968, nach BERCHTHOLD modifiziert) wurde der Beginn des Keimepithelzyklus mit dem ersten Auftreten neu gebildeter Spermatiden nach der zweiten meiotischen Teilung festgesetzt.

4.2. Spermatogenese

4.2.1. Spermatogonien

Ultrastrukturelle Untersuchungen an Spermatogonien wurden durchgeführt beim Menschen (SCHMIDT 1964; VILAR und PAULSEN 1967; TRES und SOLARI 1968; HOLSTEIN und WARTENBERG 1970; ROWLEY, et al 1971), beim Affen (GONDAS und ZEMJANIS 1970), bei der Maus (GARDENER und HOLYOKE 1964; HUGON und BORGERS 1966) und beim Kaninchen (LENNART und PLÖEN 1969). Entsprechende elektronenmikroskopische Arbeiten über die Spermatogonientypen des Rindes liegen nicht vor, sie wurden bislang nur lichtmikroskopisch beschrieben (KRAMER 1960; KRAMER, et al 1964; BERCHTHOLD 1963; ORTRAVANT 1959; KNUDSEN und BRYNE 1960; BERNDSTON und DESJARDINS 1974).

Ultrastrukturelle Untersuchungen führten beim Menschen zur Annahme von vier Spermatogonientypen: AL(long), AD(dark), AP(pale) und B (ROWLEY, et al 1971). Beim Affen wurde zwischen zwei Typen, A und B (GARDENER und HOLYOKE 1964) und beim Kaninchen zwischen A-, I- und B-Spermatogonien (LENNART und PLÖEN 1969) unterschieden.

Beim Rind bestätigen die Ergebnisse der ultrastrukturellen Untersuchungen die Ansicht von BERNDSTON und DESJARDINS (1974), welche die Spermatogonien in die Typen A, I, B₁ und B₂ unterteilen. Innerhalb der Population der A-Spermatogonien können, außer geringen Unterschieden im Heterochromatingehalt, keine derart signifikanten Variationen festgestellt werden, daß eine weitergehende Unterteilung sinnvoll wäre. Mithin kann bezüglich der Einteilung in A₁- und A₂-Spermatogonien (ORTRAVANT 1959; AMANN 1962) bzw. A₀-A₁-A₂- und A₃-Spermatogonien (HOCHEREAU DE REVIERS 1970), die nach kinetischen Gesichtspunkten getroffen wurde, kein ultramorphologisches Äquivalent gefunden werden.

Innerhalb der Spermatogonienpopulation ist eine Steigerung des Differenzierungsgrades feststellbar, die sich in unterschiedlichen Lagebeziehungen der Spermatogonien zur Basalmembran und in ultrastrukturellen Variationen niederschlägt. Die am wenigsten differenzierten Zellen sind die A-Spermatogonien, die am weitesten differenzierten die vom Typ B₂.

Der Kontakt einer A-Spermatogonie zur Basalmembran kann im Schnittbild 25 bis 30 μm betragen, während sie im weiteren Verlauf der Differenzierung zunehmend kleiner wird und bei B_2 -Spermatogonien häufig nur noch 4 - 5 μm beträgt. A- und meist auch I-Spermatogonien sind, mit Ausnahme der basalmembranseitigen Zellfläche, vollständig von sehr organellenreichen Zytoplasmaausläufern der Sertolizellen umgeben. B-Spermatogonien nehmen dagegen vermehrt Kontakt mit benachbarten primären Spermatozyten auf. Auffällig ist zudem, daß besonders im Bereich der A-Spermatogonien die Basalmembran pilzförmige, vom Plasmalemm der Spermatogonie umgebene Fortsätze in die Zelle einschiebt. Möglicherweise dienen diese einer innigen Verbindung zwischen Basalmembran und Zelle. Es wäre denkbar, daß diese enge Lagebeziehung zur Basalmembran und den Sertolizellen für die weniger differenzierten Stadien der Spermatogonien notwendig ist, um eine hohe Stoffaustauschrate zwischen Zelle und Umgebung zu gewährleisten. Dies wäre auch eine Erklärung für die Beobachtung, daß der Organellengehalt der A-Spermatogonien von allen beschriebenen Typen relativ am niedrigsten ist und in der Folge I-, B_1 -, und B_2 -Spermatogonien stetig ansteigt.

Eine vergleichbare Lagebeziehung zwischen A-Spermatogonien und Basalmembran bzw. Sertolizelle wurde auch bei der Maus (GARDENER und HOLYOKE 1964) und beim Kaninchen (LENNART und PLÖEN 1969) beschrieben. Gleiches gilt auch beim Menschen für Spermatogonien des Typs AL(long), welche als die am wenigsten differenzierte Form angesehen werden (ROWLEY, et al 1971).

Die elektronenoptische Dichte des Grundplasmas nimmt mit fortschreitendem Differenzierungsgrad zu. Auch der Gehalt an Mitochondrien steigt im Verlauf der Entwicklung an. Dabei ist bei B-Spermatogonien eine Tendenz zur Gruppierung der Mitochondrien erkennbar, wobei es an den Berührungsstellen zu membranartigen Verdichtungen homogenen Materials und zur Anlagerung von endoplasmatischem Retikulum kommt. Diese Erscheinung konnte auch beim Menschen (ROWLEY, et al 1971), beim Kaninchen (LENNART und PLÖEN 1969) und beim Affen (GONDAS und ZEMJANIS 1970) beobachtet werden, bei diesen Spezies allerdings, im Gegensatz zum Rind, bei Spermatogonien vom Typ AL und AD bzw. A und I, nicht jedoch bei Zellen vom Typ AP bzw. B.

Gleichzeitig mit dem Anstieg der Mitochondrienzahl verlängert sich das rauhe endoplasmatische Retikulum, der Gehalt an Mono- und Polyribosomen nimmt zu.

Der Anstieg im Organellengehalt während der Differenzierung der Spermatogonien des Rindes spricht für eine progressive Steigerung der Stoffwechselvorgänge, insbesondere der Synthese zelleigener Proteine. Die Anlagerung des endoplasmatischen Retikulums an die Mitochondrien ist für B-Spermatogonien charakteristisch. In Übereinstimmung mit FAWCETT (1973) wird auch diese Erscheinung im Zusammenhang mit einem erhöhten Stoffwechsel gesehen. Die Orte der Proteinsynthese (ER) legen sich eng an die "Kraftwerke" der Zellen (Mitochondrien), um den Energiebedarf der Proteinsynthese leichter decken zu können.

Auch an den Kernen der Spermatogonien des Rindes sind Unterschiede im ultrastrukturellen Erscheinungsbild zu verzeichnen. Die Größe des Kerns nimmt im Verlauf der Entwicklung von A- zu B₂-Spermatogonien leicht ab. Auffälliger hingegen sind Formveränderungen. Während A-Spermatogonien eine gleichmäßige, ovale Kernform aufweisen, wird diese bis hin zu den B₂-Spermatogonien immer unregelmäßiger, die Anzahl und Tiefe flacher Einbuchtungen nimmt zu. Allen Spermatogonien gemeinsam ist eine mit vielen Poren ausgestattete Kernmembran. Diese Poren sind mit elektronenoptisch dichtem Material ausgefüllt, was auf einen regen Stoffaustausch zwischen Kern und Zytoplasma schließen läßt.

In Übereinstimmung mit allen abgehandelten Spezies kann auch beim Rind ein deutlicher Anstieg des Heterochromatingehalts beobachtet werden. Dieser steigt von durchschnittlich 1,6 % bei A-Spermatogonien auf 3,1 % bei I-, 5,2 % bei B₁- und 7,3 % bei B₂-Spermatogonien an. Die Abweichungen sind dabei mit max. $\pm 0,4$ % bei I- und B-Spermatogonien so gering, daß der prozentuale Heterochromatingehalt für eine elektronenoptische Zelldiagnose mit herangezogen werden kann. Lediglich bei A-Spermatogonien ergaben sich mit einer Abweichung von - 0,6 % und + 1,2 % größere Variationen, was auch lichtmikroskopisch schon von KRAMER, et al (1964) festgestellt wurde.

Bei der Verteilung der Heterochromatinaggregate fällt auf, daß diese offensichtlich eine besondere Affinität zum Nukleolus und der Kernmembran haben, da sie sich hier verstärkt anlagern. Dies ist besonders ausgeprägt bei den B-Spermatogonien, wo sie nicht selten den gesamten Raum zwischen Kernmembran und exzentrisch gelegenen Nukleolus ausfüllen.

4.2.2. Spermatozyten

Elektronenoptisch untersucht wurden bisher die Spermatozyten bei der Ratte (WATSON 1952) bei der Maus (GARDENER und HOLYOKE 1964), beim Kaninchen (LENNART und PLÖEN 1969) und beim Menschen (HOLSTEIN und WARTENBERG 1970). Entsprechende Angaben über die Spermatozyten des Rindes liegen nicht vor.

Eingeleitet wird die Meiose durch einen Zelltyp, der in der älteren lichtmikroskopischen Literatur als sog. "resting primary spermatozyt" (CLERMONT und LEBLOND 1955), heute als primärer Spermatozyt im Präleptotän bezeichnet wird. Lichtmikroskopisch ist diese Zelle häufig nur schwer von B-Spermatogonien zu unterscheiden (CLERMONT 1963).

Beim Rind nimmt diese Zelle auch elektronenoptisch eine gewisse Zwitterstellung ein, indem sie einerseits hinsichtlich der Verteilung und Dichte des Heterochromatins in manchen Fällen Ähnlichkeit mit B₂-Spermatogonien hat, andererseits in Bezug auf das Erscheinungsbild ihres kontrast- und organellenarmen Zytoplasmas den primären Spermatozyten im Leptotän gleicht. Ähnliche Beobachtungen machten auch LENNART und PLÖEN (1969) an Kaninchen. Im Gegensatz zu B₂-Spermatogonien wurde jedoch beim Rind in keinem Fall ein Nukleolus beobachtet. Auch ist der Zellkern deutlich größer als bei B₂-Spermatogonien.

Beachtung verdienen die Größenverhältnisse von Zelle und Kern der Spermatozyten des Rindes.

In Bezug auf den fast kontinuierlichen Anstieg des durchschnittlichen Zelldurchmessers von $12,25\text{ }\mu\text{m}$ bei primären Spermatozyten im Präleptotän auf $15,5\text{ }\mu\text{m}$ bei sekundären Spermatozyten stimmen die Befunde beim Rind prinzipiell mit denen bei anderen Spezies (WATSON 1952; ROOSEN-RUNGE 1955; GARDENER und HOLYOKE 1964; LENNART und PLÖEN 1969) und den lichtmikroskopischen Angaben beim Rind (KNUDSEN und BRYNE 1960; BERCHTHOLD 1963) überein.

Die Kerne primärer Spermatozyten des Rindes im Präleptotän sind mit durchschnittlich $9,75\text{ }\mu\text{m}$ Durchmesser deutlich größer als die Kerne von E_2 -Spermatogonien (Durchmesser: $7\text{ }\mu\text{m}$). Bis zum späten Pachytän nimmt die Kerngröße kontinuierlich ab, erreicht hier mit einem Durchmesser von $8,5\text{ }\mu\text{m}$ den niedrigsten Wert, um dann wieder anzusteigen auf $9,5$ bis $9,75\text{ }\mu\text{m}$ bei primären Spermatozyten im Diplotän und der Diakinese sowie bei sekundären Spermatozyten.

Diese Befunde stehen im Widerspruch zu der bei verschiedenen anderen Spezies lichtmikroskopisch beobachteten deutlichen Volumenzunahme der Kerne primärer Spermatozyten (ROOSEN-RUNGE und BARLOW 1953; MERKLE 1957; ORTRAVANT 1959; GARDENER und HOLYOKE 1969; LENNART und PLÖEN 1969), entspricht jedoch annähernd den Beobachtungen von BERNDSTON und DESJARDINS (1974), die beim Rind lichtmikroskopisch erst am Ende der meiotischen Prophase einen Anstieg des Kerndurchmessers um 10 % registrierten.

Ein sehr unterschiedliches Erscheinungsbild zeigen die Kerne der Spermatozyten in den einzelnen Meiosestadien hinsichtlich des Gehalts, der Verteilung und Dichte des Heterochromatins. Häufig reichen diese Kriterien zusammen schon aus, um eine Zelldiagnose zu ermöglichen. Der prozentuale Gehalt des Heterochromatins allein ist nicht aussagekräftig, da dieser stark variiert und über die Dichte der Heterochromatinaggregate keine objektiven Angaben gemacht werden können.

Die Heterochromatinverteilung und -dichte kann in direkte Beziehung zum Ablauf der Meiose gesetzt werden.

Im Leptotän liegt das Heterochromatin als Folge der beginnenden Spiralisierung der Chromosomen in unregelmäßiger Verteilung als lockere Kondensate vor.

Im Zygotän findet man eine Verdichtung des Heterochromatins und dessen schleifenartige Anordnung. Gleichzeitig kommt es zur Ausbildung erster synaptonemaler Komplexe. Diese Erscheinungen sind Ausdruck der zunehmenden Spiralisierung und Parallelkonjugation homologer Chromosomen. Die Ausbildung synaptonemaler Komplexe wurde auch bei der Maus (GARDENER und HOLYOKE 1964) und beim Menschen (BARGMANN 1977) beobachtet.

Während des Pachytäns spiegelt die ausgeprägte Verdichtung des Heterochromatins die Verkürzung der Chromosomen wieder.

Im Diplotän und der Diakinese löst sich die bukettartige Chromosomenanordnung wieder auf, die Heterochromatinaggregate sind regellos im Kern verteilt und die synaptonemalen Komplexe verschwinden. Diese Erscheinungen sind die Folge der in diesen Teilungsstadien ablaufenden Trennung der homologen Chromosomen. Hervorzuheben sind jedoch die charakteristischen, elektronenoptisch sehr dichten Heterochromatinanlagerungen an der inneren Kernmembran, die teilweise auch bei sekundären Spermatozyten noch zu beobachten sind.

In diesem Zusammenhang ist der sog. Chromoplast zu erwähnen, eine 1 bis 1,5 μm große, meist wandständige Ansammlung hellgranulierten Materials. Der Nukleolus steht häufig in enger Beziehung zu diesem, von dem die Chromosomen schleifenartig ausgehen und die typische Bukett-Anordnung während der Synapsen bilden. Beim Rind konnte dieser Kernbestandteil nur im Pachytän und Diplotän beobachtet werden, während FAWCETT (1973) bei der Maus ihn schon in primären Spermatozyten im Leptotän fand.

Ein Nukleolus konnte in den Kernen von Spermatozyten des Rindes regelmäßig in den Meiosestadien ab dem späten Pachytän angetroffen

werden, seltener im mittleren und frühen Pachytän, dagegen nie im Präleptotän, Leptotän und Zygotän.

Gleichzeitig kommt es während der Meiose zu einem stetigen Anstieg des Organellengehaltes, was auch LENNART und PLÖEN (1969) beim Kaninchen feststellen konnten.

Beide Beobachtungen lassen sich mit einer Steigerung der Stoffwechselrate erklären, da zum einen der Organellengehalt einer Zelle in direkter Relation steht zum Grad der Stoffwechselaktivität, und zum anderen für die Proteinsynthese r-RNA und m-RNA benötigt werden, für deren Produktion das Nukleolonema der Nukleoli verantwortlich ist (KARLSON 1972; FAWCETT 1973; BARGMANN 1977).

Das vermehrte Auftreten von Kernporen in den späteren Stadien der Meiose sowie deren Füllung mit feingranulärem Material spricht ebenfalls für einen verstärkten Übertritt von Ribonukleoproteinen aus dem Zellkern in das Zytoplasma im Zuge einer verstärkten Proteinsynthese. Unklar ist jedoch die Bedeutung der Häufung vieler Kernporen in wenigen Arealen, während weite Bezirke der Kernmembran keine Poren aufweisen.

Als vorübergehende Bildung konnte beim Rind vor allem in primären Spermatozyten während des späten Pachytäns, des Diplotäns und der Diakinese sog. Lamellenkörperchen beobachtet werden. Erstmals wurden diese Organellen beim Kaninchen beschrieben (LENNART und PLÖEN 1969). Sie sollen aus glattem endoplasmatischem Retikulum entstehen und sich in dieses auch wieder zurückbilden. Die Funktion dieser temporär auftretenden Membranstapel ist nicht bekannt.

4.3. Spermatohistogenese

Während über Primaten, Nager und einige andere Spezies ausführliche elektronenoptische Untersuchungen vorliegen, existiert über den ultramorphologischen Ablauf der Spermatohistogenese beim Rind nur eine kurze Mitteilung von LEWIS und DICKEY (1968) über die Entwicklung der Akrosomenkappe.

Spermatiden der Initial- und späteren Golgi-Phase sind beim Rind unter anderem durch das Auftreten von zwei bis drei exzentrisch gelegenen Nukleoli gekennzeichnet, wie sie auch bei jungen Spermatiden der Katze (BURGOS und FAWCETT 1955) und der Maus (DOOHER und BENNETT 1973) beschrieben wurden. Dieser Befund widerspricht eindeutig der bisherigen Auffassung, daß es sich hierbei um Chromatinaggregate handelt (CLERMONT und LEBLOND 1955; ORTRAVANT 1958; KNUDSEN 1958; KRAMER 1960; BERCHTHOLD 1963; BERNDSTON und DESJARDINS 1974).

Die Nukleoli verschwinden beim Rind zu Beginn der Kappen-Phase. Dies würde aus zuvor erörterten Gründen auch mit der Ausbildung des endoplasmatischen Retikulums übereinstimmen, das bei Spermatiden der Golgi-Phase hauptsächlich aus Platten mit schwachem Ribosomenbesatz besteht und sich zu Beginn der Kappen-Phase in Vesikel agranulären endoplasmatischen Retikulums umstrukturiert. Gleichzeitig nimmt in diesem Stadium auch der Gehalt an Mono- und Polyrribosomen ab. In Übereinstimmung mit dem anfänglichen Auftreten von Nukleoli steht auch die Beobachtung von MONESI (1965), daß bei der Maus RNA nur in der ersten Phase der Spermatohistogenese synthetisiert wird und RNA nukleären Ursprungs bis zur Mitte der Spermatohistogenese vollständig vom Kern in das Zytoplasma transportiert wird. In strukturell ausdifferenzierten Spermien ist der Proteinstoffwechsel sehr gering oder fehlt ganz (MARTIN und BRACHET 1959).

Die auch beim Rind stellenweise beobachtete Füllung der Kernporen mit feingranulärem Material bringen DOOHER und BENNETT (1973) in Zusammenhang mit dem RNA-Transport.

Die wesentlichen zu erörternden Befunde, betreffen die Entwicklung des Akrosoms, die Chromatinkondensation, die Formveränderung des Kerns sowie die Ausbildung des Geisellapparates, insbesondere dessen Verbindung zum Spermatidenkern.

4.3.1. Akrosomenentwicklung

Ultrastrukturell wurde die Akrosomenentwicklung bislang untersucht beim Menschen (HORSTMANN 1961), bei der Katze (BURGOS und FAWCETT 1955), bei der Maus (GARDENER 1966; DOOHER und BENNETT 1973), bei der Ratte (BRÖKELMANN 1963), beim Lemming (HOPSU und ARSTILA 1965) und beim Opossum (PHILLIPS 1970). An ultramorphologischen Untersuchungen über die Akrosomenbildung beim Rind existiert lediglich eine kurze Mitteilung von LEWIS und DICKEY (1968).

Die Untersuchungsergebnisse beim Rind ergaben, daß der Ablauf und Modus der Akrosomenbildung lediglich in Bezug auf die Bereitstellung des Akrosomenmaterials und der Entwicklung der Akrosomenvakuole von einigen anderen Spezies abweicht.

Beim Rind werden proakrosomale Vesikel und Akrosomenmaterial erst mit Erreichen des Spermatiden-Stadiums ausgebildet. Die proakrosomalen Vesikel in der Initial-Phase erscheinen elektronenoptisch leer. Erst mit der Ausbildung der Akrosomenvakuole konnte, als Vorstufe des Akrosomengranulums, feinflockiges Material in dieser festgestellt werden.

Demgegenüber sollen bei der Ratte (GATENBY und BEAMS 1935), beim Menschen (FAWCETT und BURGOS 1956) und beim Mauswiesel (FERNER und MÜLLER 1961) proakrosomale Vesikel mit Akrosomenmaterial schon in den Golgi-Feldern primärer Spermatozyten, möglicherweise schon in Spermatogonien, ausgebildet sein. Bei der Katze (BURGOS und FAWCETT 1955), beim Menschen (HORSTMANN 1961), beim Lemming (HOPSU und ARSTILA 1965) und bei der Maus (DOOHER und BENNETT 1973) wurde Akrosomenmaterial in den proakrosomalen Vesikeln in der Initial-Phase von Spermatiden gefunden.

Im Gegensatz zu den Beobachtungen von BURGOS und FAWCETT (1953) bei der Katze, entsteht die Akrosomenvakuole beim Rind von Anfang an in direktem Kontakt zur Kernmembran und das Akrosomengranulum entsteht erst, wenn die Akrosomenvakuole schon eine Größe von 2 - 3 μ m erreicht hat.

In Übereinstimmung mit fast allen untersuchten Spezies weist die Akrosomenkappe beim Rind im apikalen Bereich eine knotenförmige Verdickung auf, deren Inhalt stärker verdichtet ist als in den Randbereichen. Lediglich beim Menschen soll das Material in der Akrosomenkappe gleichmäßig locker verteilt sein (HORSTMANN 1961).

FAWCETT und HOLLENBERG (1963) nehmen beim Meerschweinchen an, daß dieses unterschiedliche Erscheinungsbild des Akrosomenmaterials durch zwei zeitlich voneinander getrennte Sekretions-Phasen des Golgi-Apparates zustande kommt, wobei zunächst das elektronenoptisch dichte, danach das lockere Material gebildet wird. Da beim Rind zunächst proakrosomale Vesikel mit nicht kontrastierbarem Inhalt entstehen, müßten danach bei dieser Spezies drei verschiedene Sekretions-Phasen des Golgi-Apparates existieren. Hierfür konnten ultrastrukturell keine Anhaltspunkte gefunden werden. Dem unterschiedlichen Erscheinungsbild des Akrosomenmaterials während der Kappenphase dürften daher lediglich verschiedene Kondensationsgrade zu Grunde liegen.

4.3.2. Chromatinkondensation

Der Ablauf der Kondensation des Chromatins während der Spermatogenese wurde untersucht bei der Katze (BURGOS und FAWCETT 1955), beim Menschen (HORSTMANN 1961), bei der Ratte (BRÜKELMANN 1963; KESSEL und SPAZIANI 1969), beim Lemming (HOPSU und ARSTILA 1965), bei der Maus (GARDENER 1966; DOOHER und BENNETT 1973) und beim Affen (FRANKLIN 1968).

Übereinstimmend mit diesen Untersuchern, konnte auch beim Rind festgestellt werden, daß erste Chromatinkondensate an der inneren Kernmembran unter der Akrosomenanlage und im Bereich der Implantationsgrube auftreten.

Ergänzend hierzu wurde beim Rind in der Initial-Phase, mithin schon vor Ausbildung einer Akrosomenvakuole, eine verstärkte Chromatinanlagerung an der inneren Kernmembran unter dem Golgi-Apparat beobachtet.

Mit der Kernverlängerung während der Akrosom-Phase kommt es beim Rind zu einer zunehmenden Chromatinkondensation auch in zentralen Kernbereichen. Frei von Chromatinaggregaten bleibt in dieser Phase lediglich ein Randbezirk im postakrosomalen Kernbereich, der auch bei der Ratte (BRÜCKELMANN 1963), beim Lemming (HOPSON und ARSTILA 1965), beim Affen (FRANKLIN 1968) und bei der Maus (DOOHER und BENNETT 1973) gefunden wurde. Die Ursache der Vergrößerung und Aneinanderlagerung der Chromatingranula soll in der Überführung der DNA in eine kristalline Form zu suchen sein (DAOUST und CLERMONT 1955).

Die fortschreitende Chromatinkondensation verläuft beim Rind von kaudal nach apikal. Bei Nagern hingegen wird die Richtung unterschiedlich angegeben: Während BRÜCKELMANN (1963) bei der Ratte die Verlaufsrichtung, von außen beginnend nach innen fortschreitend sah, fanden DOOHER und BENNETT (1973) bei der Maus erste Chromatinkondensationen im zentralen Kernbereich. Zusätzlich beschrieben sie aber, wie auch KESSEL und SPAZIANI (1969) bei der Ratte, einen Verlauf von apikal nach kaudal.

Nach DOOHER und BENNETT (1973) ist der Grund für die erste Chromatinkondensation an der inneren Kernmembran unter der Akrosomenkappe und der Implantationsgrube darin zu sehen, daß die Chromosomen mit ihren Enden in diesen Bereichen, nicht jedoch an den postakrosomalen Seitenflächen des Kernes ansetzen. Sie erklären damit auch das Zustandekommen des postakrosomalen, chromatinfreien Kernbereiches.

Unter Zugrundelegung dieser Hypothese und der zweiten Annahme, daß die Chromatinkondensation über die ganze Länge der Chromosomen gleichmäßig abläuft, würde dies jedoch auch die bei Rind und Nagern entgegengesetzte Richtung der fortschreitenden Chromatinkondensation erklären: In der Akrosomen-Phase hat der Spermatidenkern beim Rind seine breiteste Stelle im apikalen Bereich, während seine engste im

kaudalen Kernabschnitt zu finden ist, was hier zwangsläufig zu einer stärkeren Verdichtung des Chromatins führt. Dagegen hat in dieser Phase der Spermatidenkern von Nagern die Form eines Kegels, dessen Basis sich am kaudalen Ende des Kernes befindet. Demzufolge stehen die Chromosomen im apikalen Kernbereich dichter zusammen als im kaudalen Abschnitt, wo die Chromatingranulation folglich weniger dicht ist. Sowohl beim Rind als auch bei den Nagern kommt es im weiteren Verlauf der Spermatohistogenese, durch die Abflachung des Kernes, zu einem weitgehenden Ausgleich der unterschiedlichen Kerndurchmesser, wodurch beim Rind die Kondensationsrichtung von kaudal nach apikal, bei den Nagern dagegen von apikal nach kaudal verläuft. Der Widerspruch ist also nur scheinbar und durch die unterschiedliche Formveränderung der Spermatidenkerne gegeben.

4.3.3. Formveränderungen des Kernes und Bedeutung der Manschette

Zwei Zellorganellen scheinen bei der Formveränderung des Spermatidenkerns eine besondere Bedeutung zu haben: Die Akrosomenkappe und die Manschette. Dabei scheint erstere für die Formung des vorderen, letztere für den hinteren Kernanteil verantwortlich zu sein.

Erste Formveränderungen am Kern findet man schon in der Golgi-Phase, wenn die Akrosomenvakuole Kontakt zur äußeren Kernmembran aufnimmt. An dieser Stelle findet man entgegen der Krümmungsrichtung des Kernes eine Einbuchtung in Richtung auf das Kernzentrum. Auffällig ist dabei, daß die Krümmungsänderung der Kernmembran der Krümmung der Akrosomenvakuole streng folgt, und der Richtungswechsel der Kernmembran an den Rändern der Kontaktzone sehr abrupt erfolgt. Die Einbuchtung der Kernmembran kann dabei sicherlich nicht durch Druckkräfte erfolgen, da sonst eine Verformung der Akrosomenvakuole von Seiten des Kernes zu erwarten wäre. Die Ursache hierfür dürfte eher in einer Änderung der Oberflächenspannung zu suchen sein (HORSTMANN 1961). Die Einengung des Kernraumes unter der Akrosomenanlage findet man auch noch am Ende der Kappen-Phase, wo sich der Kerndurchmesser kaudal des Randwulstes der Akrosomenkappe deutlich vergrößert. Zumindest im vorderen Kernbereich scheint somit das Akrosom, durch eine Art Zangenwirkung, Einfluß auf die Umformung des Spermatidenkerns zu haben.

Die weitere Umbildung der Kernform wird begleitet von einer Stoffabgabe aus dem Kern in das Zytoplasma und einer Reduktion der Kernmembranfläche.

Beim Rind scheint es sich hierbei um einen biphasischen Vorgang zu handeln, wobei offenbar zunächst Kernmaterial durch Kernporen in das Zytoplasma abgegeben wird. Die durch diese Volumenverminderung relativ zu große Kernmembran bildet anschließend am kaudalen Kernende Protrusionen. Diese Befunde gleichen denen bei der Ratte (BRÜCKELMANN 1963), beim Lemming (HOPSON und ARSTILA 1965) und beim Affen (FRANKLIN 1968). Im Gegensatz hierzu scheint beim Menschen durch Abschnürung materialgefüllter Membranlamellen und Vakuolen die Stoffabgabe gleichzeitig mit der Flächenreduktion abzulaufen (HORSTMANN 1961; DE KRETZER 1969).

Der Verbleib der Membrananteile der Kernprotrusionen ist unsicher. Da beim Rind keine Anzeichen einer Abschnürung beobachtet werden konnten, ist die Ursache für die Rückbildung möglicherweise in einem kontinuierlichen Abbau von Membranmaterial zu suchen. BRÜCKELMANN (1963) hingegen glaubte, Rudimente davon in den Residual-Körpern gefunden zu haben.

Mit Beginn der Akrosomen-Phase tritt die sog. Manschette auf. Sie besteht aus einer Vielzahl enger Tubuli, die helikal den postakrosomalen Kernabschnitt umgeben und noch eine kurze Strecke ins Zytoplasma reichen. Wie bei anderen Spezies, entspringt sie auch beim Rind in einem perinukleären Ringwulst und nimmt sehr engen Kontakt zu den kaudalen Kernprotrusionen auf.

Insbesondere ihr Auftreten in der Phase der Kernverlängerung und ihr enger Kontakt zur postakrosomalen Kernmembran scheint auch beim Rind die Ansicht einiger Untersucher zu bestätigen, die die Aufgabe der Manschette darin sehen, als Zytoskelett die hintere Region des Spermatidenkerns bei der Verlängerung zu begleiten, und an der Formung des kaudalen Anteils des Spermatidenkerns mitzuwirken (FAWCETT und PHILLIPS 1967; MAC KINNON und ABRAHAM 1972; KESSEL und SPAZIANI 1969).

Die Herkunft des Manschettenmaterials ist nicht genau bekannt. Die Beobachtungen an Spermatiden des Rindes sprechen für eine Bildung der Tubuli aus den Membranen des glatten endoplasmatischen Retikulums während der Kappen-Phase. HORSTMANN (1961) dagegen konnte beim Menschen streifenförmige Materialverdichtungen seitlich des kaudalen Kernabschnittes beobachten, die er als Vorläufer der Manschetten-tubuli deutete. Das Material soll dabei dem Kern entstammen. BURGOS und FAWCETT (1955) deuten die Manschette als Abkömmling der Plasmamembran.

Ebenso unklar wie die Entstehung ist der Verbleib des Manschettenmaterials. Beim Rind wurden in den Residual-Körpern kleine Tubuli und Granula beobachtet, die in Übereinstimmung mit entsprechenden Befunden bei der Ratte (BRÜCKELMANN 1963) und beim Menschen (DE KRETZER 1969) als Reste der Manschette gedeutet werden können. Auffällig ist zudem, daß beim Rind der perinukleäre Ursprungswulst noch lange nach dem Verschwinden der Manschetten-tubuli vorzufinden war.

4.3.4. Verbindungsstück und Zentriolaranhang

Ultrastrukturelle Untersuchungen hinsichtlich der Entwicklung des Spermienhalses liegen vor von DE KRETZER (1969) beim Menschen. FAWCETT und PHILLIPS (1969) bei verschiedenen Nagern sowie YASUZUMI, et al (1972) bei der Katze.

Das Flagellum entwickelt sich aus dem distalen Zentriol und artikuliert über das sog. Verbindungsstück mit der Basalplatte in der Implantationsgrube des Spermatidenkerns. Beim Rind konnten erste Anlagen des Flagellums in der Kappen-Phase nach der Implantation der Zentriolen in den Spermatidenkern gefunden werden. Das Verbindungsstück entwickelt sich erst am Anfang der Akrosom-Phase. Demgegenüber beginnt nach DE KRETZER (1969), FAWCETT und PHILLIPS (1969) sowie YASUZUMI, et al (1972) die Bildung des Flagellums schon während der Golgi-Phase, mithin zu einem Zeitpunkt, zu dem der Zentriolarapparat noch keinen Kontakt zum Spermatidenkern hat. Dabei sollen auch schon die Artikulationsfläche am proximalen Zentriol vorbereitet und das Verbindungsstück angelegt werden.

Die Befunde beim Rind ergaben, daß sowohl das proximale als auch das distale Zentriol mit ähnlichem feinfilamentösen Material ausgefüllt sind, wie es im Spalt zwischen proximalen Zentriol und Basalplatte einerseits sowie zwischen dieser und der äußeren Kernmembran andererseits zu finden ist. Aus entsprechenden Beobachtungen beim Menschen und verschiedenen Nagern schlossen FAWCETT und PHILLIPS (1969) und DE KRETZER (1969), daß das Material für die Basalplatte vom proximalen Zentriol produziert wird.

In Bezug auf die Entwicklung des Verbindungsstückes war man früher der Ansicht, daß es durch Umstrukturierung des distalen Zentriols entsteht (FAWCETT 1965). Heute dagegen ist man der Auffassung, daß das Material für das Verbindungsstück im distalen und proximalen Zentriol produziert und dann nach außen abgegeben wird, wo es sich in der typischen, gestreiften Struktur anordnet (DE KRETZER 1969; FAWCETT und PHILLIPS 1969).

Beim Rind ist in der Akrosom-Phase während der Bildung des Verbindungsstückes eine Verlängerung des proximalen Zentriols zu beobachten, die erstmals MEVES (1899) beim Meerschweinchen beschreibt. Sie wird als sog. Zentriolaranhang bezeichnet (FAWCETT und PHILLIPS 1969). Dieser wurde als vorübergehend persistente Struktur auch beim Menschen (HORSTMANN 1961; DE KRETZER 1969), beim Affen (FRANKLIN 1968) und bei verschiedenen Nagern (FAWCETT und PHILLIPS 1967; FAWCETT und PHILLIPS 1969) beobachtet. Nach FAWCETT und PHILLIPS (1969) wird der Zentriolaranhang vom proximalen Zentriol gebildet.

Die Funktion des Zentriolaranhangs ist noch unklar. HORSTMANN (1961) bringt ihn in Verbindung mit den Fortsätzen von Basalkernstrukturen von Flimmerhaaren, wie sie von FAWCETT und PORTER (1954) beschrieben wurden. Da der Zentriolaranhang im Spermium jedoch nicht mehr vorhanden ist, hat er sicherlich keine Aufgabe in den Bewegungsabläufen des Spermischwanzes. FAWCETT und PHILLIPS (1969) stellten fest, daß das proximale Zentriol mit seiner Längsachse immer in Richtung der Kernabflachung liegt, und nur an seiner medialen Öffnung vom Verbindungsstück umgeben ist. Nachdem gegen Ende der Akrosom-Phase

die Abflachung des Spermatidenkerns einsetzt, könnte der lange Zentriolaranhang möglicherweise dazu dienen, als Hebelarm das proximale Zentriol und das Verbindungsstück in die Richtung der Abflachung des Kerns zu drehen und somit den Halsabschnitt des Spermiums in konstante Lage zum Spermienkopf zu bringen.

4.4. Chromatoid-Körper

Chromatoid-Körper wurden erstmals beschrieben von BENDA (1891), der sie in Spermatozyten von Ratten fand, später von NIESING (1897) als Strukturelement in Spermatiden. Elektronenoptisch wurden sie bisher untersucht beim Menschen (DE KRETZER 1969), bei der Katze (BURGOS und FAWCETT 1955; YASUZUMI, et al 1972) und bei verschiedenen Nagern (WATSON 1952; SWINT 1956; FAWCETT und ITO 1958; WATSON und ALDRIDGE 1961; SUD 1961 a,b; BRÖKELMANN 1963; FAWCETT und PHILLIPS 1957; LENNART und PLÖN 1969; SUSI und CLERMONT 1971; FAWCETT, et al 1970; DOOHER und BENNETT 1973). Entsprechende Arbeiten über das Rind liegen bislang nicht vor.

Als isoliertes Gebilde ist der Chromatoid-Körper beim Rind erstmals in Spermatozyten des späten Pachytäns und des Diplotäns zu finden. Es handelt sich hierbei um eine oder mehrere elektronenoptisch sehr dichte Ansammlungen feingranulären Materials, die zu Beginn ihres Auftretens engen Kontakt zu den Mitochondrien-Gruppen besitzen und in ihrem Erscheinungsbild der intermitochondrialen Zwischensubstanz sehr ähneln. In Spermatiden sind Chromatoid-Körper bis zum Ende der Akrosom-Phase zu verfolgen, wobei sie anfangs häufig dem Golgi-Apparat oder der Kernmembran benachbart sind, später an den kaudalen Kernpol wandern und Kontakt zum Verbindungsstück und Anulus aufnehmen. Diese Beobachtungen decken sich mit denen, die an anderen Spezies gemacht wurden (BURGOS und FAWCETT 1955; BRÖKELMANN 1963; FAWCETT, et al 1970; SUSI und CLERMONT 1971; YASUZUMI, et al 1972; DOOHER und BENNETT 1973).

Meist eng vergesellschaftet mit den Chromatoid-Körpern sind beim Rind mäßig dichte, wabige Strukturen mit einem hohen Gehalt an Monoribosomen, die FAWCETT, et al (1970) als sog. "Satelliten" des Chromatoid-Körpers bezeichnen. Diese Gebilde wurden bislang nur bei einigen Nagern beschrieben (SUD 1961 b; FAWCETT, et al 1970).

Während das ultrastrukturelle Bild des Chromatoid-Körpers weitgehend bekannt ist, sind Herkunft, Funktion und Verbleib dieses Zellorganells sehr umstritten.

Bezüglich der Herkunft der Chromatoid-Körper sprechen die Befunde beim Rind für die Ansicht von FAWCETT und PHILLIPS (1967), LENNART und PLÖEN (1969) sowie FAWCETT, et al (1970), welche die intermitochondriale Zwischensubstanz als Vorläufer der Chromatoid-Körper ansehen. Anzeichen für einen nukleären Ursprung des Materials (BENDA 1891; REGAUD 1910; YASUZUMI, et al 1972) oder dessen Bildung im Golgi-Apparat (TOBIAS 1957; SUD 1961 b; LENNART und PLÖEN 1969) konnten nicht gefunden werden.

Die Herkunft des Satellitenmaterials ist gänzlich ungeklärt. Beim Rind konnte festgestellt werden, daß vor der eigentlichen Trennung der Chromatoid-Körper von den Mitochondrien-Gruppen, sich aus der intermitochondrialen Zwischensubstanz lockeres, flockiges Material ablöst, dessen Erscheinungsbild dem der Satelliten sehr ähnelt. Demnach wäre der Satellit als strukturelle Variation des Chromatoid-Körpers zu beurteilen. FAWCETT, et al (1970) dagegen glauben an einen ribosomalen Ursprung des Satellitenmaterials. Zumindest in Bezug auf das Rind erscheint dies unwahrscheinlich, da in den Satelliten nur Monoribosomen gefunden werden konnten, eine Proteinsynthese jedoch deren Verbindung zu Polyribosomen voraussetzt.

Auch bezüglich der Bildung der intermitochondrialen Zwischensubstanz und der Aufgabe der aus ihr entstehenden Chromatoid-Körper bestehen unterschiedliche Auffassungen.

In Übereinstimmung mit FAWCETT, et al (1970) sprechen die ultrastrukturellen Befunde beim Rind für eine Synthese der intermitochondrialen Zwischensubstanz in den Mitochondrien. Unterstützt wird diese Annahme durch die Beobachtung, daß die intermitochondriale Zwischensubstanz und die Chromatoid-Körper einen hohen Anteil an Ribonukleoproteinen enthalten (DAOUST und CLERMONT 1955; SUD 1961 b; FAWCETT und PHILLIPS 1967; YASUZUMI, et al 1970; FAWCETT, et al 1970), und Mitochondrien mittels ihres Ribonukleoprotein-Synthesystems RNA produzieren können (ATTARDI und ATTARDI 1967).

Demgegenüber wird jedoch auch eine Synthese des Materials durch zytoplasmatische Ribosomen nicht ausgeschlossen FAWCETT, et al 1970. Nach ANDRE (1962) soll das Material durch Aggregation und Zusammenfluß von Ribosomen entstehen und Vorstufe für die Bildung neuer Mitochondrien sein.

Im Laufe der Spermatohistogenese wandern Chromatoid-Körper und Satelliten in die Halsregion der Spermatide und sollen dort an der Bildung des Verbindungsstücks und des Anulus beteiligt sein (BRÖKELMANN 1963; FAWCETT und PHILLIPS 1967; DE KRETZER 1969; LENNART und PLÖEN 1969; YASUZUMI, et al 1972). Dabei ist nicht sicher, ob diese Beteiligung unmittelbar oder nur mittelbar ist. FAWCETT, et al (1970) fanden zwar Rudimente des Chromatoid-Körpers am distalen Zentriol und am Anulus, sog. Parazentriolarkörper, ähnlich, wie sie auch beim Rind festgestellt werden konnten, glaubten jedoch nicht an eine unmittelbare Beteiligung des Chromatoid-Körpers an der Bildung dieser Organellen.

Unter Anlehnung an die Beobachtungen von FAWCETT, et al (1970), scheint eher eine mittelbare Beteiligung des Chromatoid-Körpers an der Bildung der Halsorganellen der Spermatiden wahrscheinlich, bedingt durch den Gehalt an RNA. Zum Zeitpunkt der Entstehung der Halsorganellen und des Spermienmittelstücks ist kein Nukleolus mehr vorhanden, der RNA bereitstellen könnte. Andererseits ist ein so komplexer Vorgang wie die Differenzierung in diesem Zellbereich sicherlich nicht ohne Bildung neuer Proteine möglich. Demnach könnte der Chromatoid-Körper als Informationsspeicher für diese Proteinsynthese fungieren.

Auch der Verbleib der Chromatoid-Körper und seiner Satelliten ist bislang nicht eindeutig geklärt. Beim Rind konnte in den Residual-Körpern eine große Anzahl ribosomenartiger Granula beobachtet werden, die möglicherweise in Übereinstimmung mit DALED (1951), DAOUST und CLERMONT (1955), SUD (1961 b), DE KRETZER (1969), FAWCETT, et al (1970) sowie SUSI und CLERMONT (1971) als Rudimente von Chromatoid-Körpern anzusprechen sind. Auch eine Auflösung wird nicht ausgeschlossen (DUESBERG 1908; SUD 1961 b;

BRÜKELMANN 1963; FAWCETT, et al 1970). Die von MOORE (1893; 1894) geäußerte Vermutung, der Chromatoid-Körper werde vom Kern aufgenommen, darf heute sicher als überholt gelten.

4.5. Multivesikuläre Körper

Als sehr auffälliges Strukturelement sind in späten Spermatozytenstadien und in Spermatiden des Rindes multivesikuläre Körper zu beobachten. Deutlich ist hierbei zwischen hellen und dunklen Formen zu unterscheiden, die nicht nur hinsichtlich ihrer Morphologie voneinander abweichen, sondern auch auf unterschiedliche Weise gebildet werden.

Multivesikuläre Körper wurden bisher in den männlichen Germinativzellen verschiedener Nager beschrieben (BRÜCKELMANN 1963; DIETERT 1966; LENNART und PLÖEN 1969; SUSI und CLERMONT 1971) sowie in Spermatiden von Coleoptera (WERNER 1976). Während das Vorkommen multivesikulärer Körper heller und dunkler Form in somatischen Zellen schon häufig beobachtet wurde (NICANDER 1966; FRIEND 1969; BIBERFELD 1971; MARTIN und SPICER 1973; ANTEUNIS 1974), konnten sie in Spermatogenesezellen bislang nur bei Coleoptera gefunden werden (WERNER 1976). Teilweise wurde dabei angenommen, daß die hellen multivesikulären Körper in dunkle übergeführt würden, wobei die Übergänge fließend sein sollen (BIBERFELD 1971; WERNER 1976).

Die Entwicklung multivesikulärer Körper wird in der Literatur sehr unterschiedlich beschrieben, was sicherlich auch auf die unterschiedlichen Zelltypen zurückzuführen ist, in denen sie gefunden wurden.

Beim Rind können Vorstufen multivesikulärer Körper schon in primären Spermatozyten im späten Zygotän gefunden werden, ihre Bildung ist jedoch auch noch in Spermatiden der Golgi-Phase zu beobachten. Dabei konnte für beide Formen eine unterschiedliche Entstehungsweise festgestellt werden.

Die dunklen multivesikulären Körper scheinen ihren Ursprung im endoplasmatischen Retikulum zu haben. Hier ist zunächst entlang der endoplasmatischen Membranen eine Verdichtung feingranulären und filamentösen Materials zu beobachten, das sich später zu scharf abgesetzten Vakuolen umstrukturiert. Durch Abschnürung einzelner Membranteile der Vakuolen füllen sich diese mit kleineren Vesikeln.

Andererseits scheinen aber auch Vesikel und kurze Tubuli außerhalb der Vakuolen gebildet zu werden, die dann sekundär von den großen Vakuolen aufgenommen werden. Dadurch lassen sich auch die oberflächlichen Membranfortsätze an den dunklen multivesikulären Körpern erklären. In ähnlicher Weise glauben auch MOLLENHAUER und ZEBRUN (1960), NOVIKOFF, et al (1964) sowie WERNER (1976) an eine Herkunft der multivesikulären Körper vom endoplasmatischen Retikulum.

Die hellen multivesikulären Körper scheinen beim Rind vom Golgi-Apparat abzustammen. Während die zuvor beschriebenen in ihrer Entstehung keine Beziehung zum Golgi-Apparat besitzen, sind erste Anlagen der hellen Formen immer in der Nähe dieses Zellorganells als Ansammlung kleiner Vesikel zu finden. Diese Vesikelansammlungen sind zunächst nicht membranbegrenzt, sondern erhalten diese äußere Membran im Gegensatz zu den dunklen Formen erst sekundär. Diese Befunde stimmen mit denen von ESSNER und NOVIKOFF (1961), RAMBOURGH, et al (1969) sowie ANTEUNIS (1974) weitgehend überein.

Anhaltspunkte für eine Abstammung vom Plasmalemm (FARQUHAR, et al 1961; NICANDER 1966) oder eine Entstehung aus Endozytosevakuolen (ROSENBLUTH und WISSIG 1964; GORDON, et al 1965) konnten beim Rind nicht gefunden werden. Auch wurden keine Übergänge zwischen hellen und dunklen Formen beobachtet.

Ebenso wie die Herkunft, so ist auch die Aufgabe der multivesikulären Körper noch nicht vollständig geklärt. Unter Zugrundelegung der Annahme, daß sie vom Golgi-Apparat abstammen, dieser in der Lage ist, Lysosomen zu produzieren (NOVIKOFF, et al 1964; SWIFT und HRUBAN 1964) sowie wegen des hohen Gehalts der multivesikulären Körper an saurerer Phosphatase werden sie heute allgemein den Lysosomen zugeschrieben. Hierfür spricht auch ihre morphologische Ähnlichkeit mit Lysosomen in einigen anderen Zelltypen (DE DUVE 1959; NOVIKOFF 1961; ROSS und BENDITT 1961; ASHFORD und PORTER 1962). Ihre Funktion als Lysosomen ist jedoch unklar. NICANDER (1967) beobachtete in Spermatogonien und primären Spermatozyten Mikropinozytoseprozesse und interpretierte sie als Ernährungsmodus dieser Zellen. LENNART und PLÜEN (1969) nehmen daher an, daß die Aufgabe

der multivesikulären Körper darin besteht, diese durch Pinozytose aufgenommenen Stoffe zu verdauen. DIETERT (1966) fand die multivesikulären Körper in der Reifungs-Phase von Spermatiden der Maus in den Zytoplasmaanhängen und Residualkörpern und nahmen an, daß ihre Aufgabe in einer zytoplasmatischen Autophagie besteht, eine Ansicht, die auch LEBLOND und CLERMONT (1952) vertreten.

Der Verbleib der multivesikulären Körper scheint weitgehend geklärt zu sein. Beim Rind konnten in den Residualkörpern große, unregelmäßig geformte Vakuolen mit kleinen Vesikeln oder Granula sowie freie Vesikel ähnlicher Morphologie wie die der multivesikulären Körper festgestellt werden. Diese Beobachtungen stehen in Übereinstimmung mit der Ansicht, multivesikuläre Körper würden mit den Residualkörpern abgestoßen und von Sertolizellen phagozytiert (LACY 1960; BRÜKELMANN 1963; DIETERT 1966; SUSI und CLERMONT 1971).

5. ZUSAMMENFASSUNG

Für die ultramorphologische Untersuchung der Spermatogenesezellen des Rindes wurden die Hoden von zwölf geschlechtsreifen, klinisch gesunden Tieren herangezogen.

Zur Bestimmung der Phasen des Keimepithelzyklus wurde als Unterscheidungskriterium der variierende Gesamtaufbau des Tubulusepithels benutzt. Auf Grund licht- und elektronenoptisch gewonnener Untersuchungsergebnisse konnte der Keimepithelzyklus des Rindes in acht verschiedene Phasen unterteilt werden.

Die Ultrastruktur der Phasen des Keimepithelzyklus sowie der einzelnen Zellen der Spermatogenese und Spermatohistogenese wurden untersucht. Dabei waren ultrastrukturell A-, I-, B₁- und B₂-Spermatogonien zu unterscheiden. Während des Durchlaufens der Meiosestadien nehmen primäre Spermatozyten an Größe zu. Dabei kommt es gleichzeitig zu einem deutlichen Anstieg des Organellengehalts. Die Größe des Kerns dagegen nimmt in den ersten Stadien der meiotischen Prophase leicht ab. Erst im Diplotän und der Diakinese sowie bei sekundären Spermatozyten erreicht er maximale Größe. Hinsichtlich der Verteilung und Dichte des Heterochromatins konnten für jedes Teilungsstadium charakteristische Merkmale beobachtet werden. Die ultrastrukturellen Unterschiede innerhalb der Spermatogonien, Spermatozyten und Spermatiden, unter besonderer Berücksichtigung des Auftretens von Nukleoli und Variation im Gehalt der Zellen an Organellen, werden in Beziehung zum Grad der Zelldifferenzierung und Stoffwechselleistung diskutiert.

Die Spermatohistogenese verläuft prinzipiell wie bei anderen untersuchten Säugern. Die Chromatinkondensation in Spermatidenkernen des Rindes verläuft von kaudal nach apikal. Bei der Formung des Spermatidenkerns scheint die Akrosomenanlage für den kranialen, die Manschette für den kaudalen Kernabschnitt verantwortlich zu sein. Das Verbindungsstück und das Flagellum sind erst während des Beginns der Akrosomphase feststellbar.

Morphologie und Auftreten von Chromatoid-Körpern, deren Satelliten sowie hellen und dunklen Formen multivesikulärer Körper wurden untersucht und in Bezug auf Herkunft, Verbleib und Aufgabe diskutiert.

SUMMARY

For the ultramorphological examination of the spermatogenesis cells of bovinæ, the testes of twelve mature, clinically healthy bulls were used.

The varying total structure of the tubular epithelium was used as a criterion of decision in order to determine the stages of the cycle of the seminiferous epithelium. On the basis of results of examination obtained by light and electronic optical methods, the cycle of the seminiferous epithelium of bovinæ could be subdivided into eight different stages.

The ultrastructure of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium as well as of the individual cells of spermatogenesis and spermiogenesis was examined. Ultrastructurally, A-, I-, B₁- and B₂-spermatogonia were distinguished. During the running of the meiotic stages, primary spermatocytes increase in size. At the same time a marked increase of the organelle content occurs. The size of the nucleus, however, decreases slightly in the first few stages of the meiotic prophase. It reaches its maximum size only in the diplotene and diakinesis as well as with secondary spermatocytes. With regard to the distribution and density of the heterochromatin, characteristic features could be observed for each stage of meiosis. The ultrastructural differences within the spermatogonia, spermatocytes and spermatides, with special consideration given to the occurrence of nucleoli and variation in the organelle content of the cells, are discussed in relation with the degree of cell differentiation and metabolic capacity.

Spermiogenesis principally takes the same course as in other mammals examined. Chromatin condensation in spermatide nuclei of bovinæ takes a caudal to apical course. When the spermatide nucleus is formed, the acrosome primordium seems to be responsible for the cranial, the manchette, for the caudal nuclear section. The connecting piece and the flagellum can only be ascertained during the beginning of the acrosome phase.

The morphology and occurrence of chromatoid bodies, their satellites as well as bright and dark forms of multivesicular bodies were examined and discussed with regard to their origin, destiny and task.

6. LITERATURVERZEICHNIS

=====

AMANN R.P.

Reproductive physiology of the male bovine.
Thesis Pennsylvania State University (1962).

ANDRÉ J.

Contribution à la connaissance du chondriome. Étude de ses
modifications ultrastructurales pendant la spermatogénèse.
J. Ultrastruct. Res. 3 (Suppl.): 1-185 (1962)

ANTEUNIS A.

Origin and fate of the multivesicular bodies in PHA
stimulated lymphocytes.
Cell Tiss. Res. 149:497-511 (1974)

ASHFORD T.P. und K.R. PORTER

Cytoplasmatic components in hepatic cell lysosomes.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 12:198-202 (1962)

ATTARDI B. und G. ATTARDI

A membrane-associated RNA of cytoplasmic origin in HeLa-cells.
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 58:1051-1058 (1967)

BARGMANN W.

Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart. 7.Aufl. (1977)

BERCHTHOLD M.

Spermiogenese
Aus: Die künstliche Besamung bei den Haustieren.
Herausgegeben von Schaetz F. VEB Gustav Fischer Verlag Jena
(1963)

BENDA C.

Neue Mitteilungen über die Entwicklung der Genitaldrüsen und die Metamorphose der Samenzellen (Histogenese der Spermatozoen). Verhandlungen der Berliner Physiologischen Gesellschaft. Arch. Anat. Physiol. 1891:540-552 (1891)

BERNDSTON W.E. und C. DESJARDINS

The cycle of the seminiferous epithelium and spermatogenesis in the bovine testis.
Am. J. Anat. 140:167-179 (1974)

BIBERFELD P.

Endocytosis and lysosome formation in blood lymphocytes transformed by Phytohemagglutinin.
J. Ultrastruct. Res. 37:41-68 (1971)

BLOOM W. und D.W. FAWCETT

Spermiogenesis
In: A textbook of histology p. 697-701
Philadelphia-London-Toronto: W.B. Saunders C. (1968)

BRÖKELMANN J.

Surface modifications of Sertoli cells at various stages of spermatogenesis in the rat.
Anat. Rec. 139:211 (A) (1961)

BRÖKELMANN J.

Fine structure of germ cells and sertoli cells during the cycle of seminiferous epithelium on the rat.
Z. Zellforsch. 59:820-850 (1963)

BURGOS M.H. und D.W. FAWCETT

Studies on the fine structure of the mamalian testis:

1. Differentiation of the spermatids in the cat
(*Felis domestica*).

J. Biophys. Biochem. Cytol. 1:287-300 (1955)

CLERMONT Y.

Cycle of the seminiferous epithelium of the guinea pig.

A method for identification of the stages.

Fertil.Steril. 11:536 (1960)

CLERMONT Y.

The cycle of the seminiferous epithelium in man.

Am. J. Anat. 112:35-51 (1963)

CLERMONT Y. und C.P. LEBLOND

Spermiogenesis of man, monkey, ram and other mammals as
shown by the "periodic acid Schiff technic".

Am. J. Anat. 96:229 (1955)

CLERMONT Y. und C.P. LEBLOND

Differentiation and renewal of spermatogonia in the monkey
MACACUS RHEUS.

Rev. canad. Biol. 104:237-274 (1959)

DALED H.J.

Etude cytochimique sur l'évolution de l'acide ribonucléique
dans la spermatogénèse du rat.

Arch. anat. microscop. Morphol. exper. 40:183-194 (1951)

DAOUST R. und Y. CLERMONT

Distribution of nucleic acids in germ cells during the cycle of the seminiferous epithelium in the rat.

Am. J. Anat. 96:255-283 (1955)

DIETERT S.E.

Fine structure of the formation and fate of the residual bodies of the mouse spermatozoa with evidence for the participation of lysosomes.

J. Morph. 120:317-346 (1966)

DOOHER G.B. und D. BENNETT

Fine structural observations on the development of the sperm head in the mouse.

Am. J. Anat. 136:339-362 (1973)

DUESBERG J.

Les divisions des spermatocytes chez le rat (mus decumanas Pall., variété albinos)

Arch. Zellforsch. 1:399-449 (1908)

DUVE de, C.

Lysosomes, a new group of cytoplasmatic particles.

In: Subcellular particles,

Hayashi ed. p. 128. New York: Ronald Press (1959)

DYM M. und D.W. FAWCETT

Further observations on the numbers of spermatogonia, spermatocytes and spermatides connected by intracellular bridges in the mammalian testis.

Biology of Reproduction 4:195-215 (1971)

EBNER von, V.

Zur Spermatogenese bei Säugetieren.

Arch. mikroskop. Anat. 31:236-292 (1888)

ESSNER E. und A.B. NOWIKOFF

Localization of acid phosphatase activity in hepatic
lysosomes by means of electron microscopy.

J. Biophys. Biochem. Cytol. 9:773-783 (1961)

FARQUHAR M.G., S.L. WISSIG und G.E. PALADE

Glomerular permeability. I. Ferritin transfer across the
normal glomerular capillary wall.

J. Exp. Med. 113:47-66 (1961)

FAWCETT D.W.

The anatomy of the mammalian spermatozoon with particular
reference to the Guinea pig.

Z. Zellforsch. 67:279-296 (1965)

FAWCETT D.W.

Atlas zur Elektronenmikroskopie der Zelle.

Verlag Urban & Schwarzenberg, München-Berlin-Wien (1973)

FAWCETT D.W. und M.H. BURGOS

The fine structure of Sertoli cells in human testis.

Anat. Rec. 124:401 (1956 a)

FAWCETT D.W. und M.H. BURGOS

Observations on the cytomorphosis of the germinal and
interstitial cells of the human testis.

Ciba Foundation Coll. Ageing 2:86-99 (1956 b)

FAWCETT D.W., EDDY E.M. und D.M. PHILLIPS

Observations on the fine structure and relationship of
the chromatoid body in mammalian spermatogenesis.
Biology of Reproduction 2:129-153 (1970)

FAWCETT D.W. und R.D. HOLLENBERG

Changes in the acrosome of guinea pig spermatozoa
during passage through the epididymis.
Z. Zellforsch. 60:276-292 (1963)

FAWCETT D.W. und S. ITO

Observation on the cytoplasmatic membranes of the
testicular cells examined by phase-contrast and
electron microscopy.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 4:135-142 (1958)

FAWCETT D.W. und D.M. PHILLIPS

Further observations on mammalian spermatogenesis.
J. Cell Biol. 35:152 (A) (1967)

FAWCETT D.W. und D.M. PHILLIPS

The fine structure and development of the neck region
of the mammalian spermatozoon.
Anat. Rec. 165:153-184 (1969)

FAWCETT D.W. und K.R. PORTER

A study of the fine structure of ciliated epithelia.
J. Morph. 94:221-282 (1954)

FERNER H. und J. MÜLLER

Die Bildung der Kopfkappe (Akrosom) bei der
Spermienentwicklung des Mauswiesels.
Z. Zellforsch. 54:105-117 (1961)

FRANKLIN L.E.

Formation of the redundand nuclear envelope in
monkey spermatids.

Anat. Rec. 161:149-162 (1968)

FRIEND D.S.

Cytochemical staining of multivesicular body
and golgi vesicles.

J. Cell. Biol. 41:269-279 (1969)

GARDENER P.J.

Fine structure of the seminiferous tubule of the
Swiss mouse. The spermatid.

Anat. Rec. 155:235-250 (1966)

GARDENER P. und E. HOLYOKE

Observations on the fine structure of the seminiferous
tubules of the Swiss mouse.

Anat. Rec. 145:320 (1963)

GARDENER P.J. und E.A. HOLYOKE

Fine structure of the seminiferous tubules of the
Swiss mouse.

1. The limiting membrane, sertoli cells, spermatogonia
and spermatocytes.

Anat. Rec. 150:391-404 (1964)

GATENBY J.B. und H.W. BEAMS

The cytoplasmatic inclusions in the spermatogenesis of man.

Quar. J. micr. Sci. 78:1-29 (1935)

GONDAS B. und R. ZEMJANIS

Fine structure of spermatogonia and intercellular bridges in
MACACA NEMESTRINA.

J. Morphol. 131:431-446 (1970)

GORDON G.B., L.R. MILLER und K.G. BENSCHE

Studies on the intracellular digestive process in
mammalian tissue culture cells.

J. Cell Biol. 25, Part 2:41-56 (1965)

HILSCHER W.

Kinetik der Präspmatogenese.

Verh. Anat. Ges. 68:39-62 (1974).

HOCHEREAU de REVIERS M.T.

Etudes des divisions spermatogonales et du renouvellement
de la spermatogonie chez le taureau.

These Doct. D'Etat Es-Sciences Mat, Paris (1970)

HOLSTEIN A.F. und H. WARTENBERG

On the cytomorphology of human spermatogenesis.

Fortschritte der Andrologie Vol. 1.

Herausgeg. von C. Schirren, Grosse Verlag Berlin 1970

HOPSU V.K. und A.U. ARSTILA

Development of the acrosomic system of the spermatozoon
in the Norwegian lemming.

Z. Zellforsch. 65:562-572 (1965)

HORSTMANN E.

Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur
Spermiohistogenese beim Menschen.

Z. Zellforsch. 54:68 (1961)

HUGON J. und M. BORGERS

Ultrastructural and cytochemical changes in spermatogonia
and Sertoli-cells of whole-body irradiated mice.
Anat. Rec. 155:15-32 (1966)

KARLSON P.

Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und
Naturwissenschaftler.
Georg Thieme Verlag, 8. überarb. Aufl. (1972)

KESSEL R.G. und E. SPAZIANI

Nuclear morphogenesis in rat spermatids.
J. Cell. Biol. 43:67 (A) (1969)

KINGSLEY - SMITH B.V. und D. LACY

Residual bodies of seminiferous tubules of the rat.
Nature (London) 184:249-251 (1959)

KNUDSEN O.

Studies on the spermatogenesis in the bull.
Internat. J. of Fertil. 3:389 (1958)

KNUDSEN O. und N. BRYNE

The spermiogenesis of the bull.
Acta Vet. Scand. 1:140-160 (1960)

KRAMER M.F.

Spermatogenesis bij de stier.
Diss. Utrecht (1960)

KRAMER M.F., A. de LANGE und M.B.H. VISSER

Spermatogonia in the bull.

Z. Zellforsch. 63:735-758 (1964)

KRETZER de, D.M.

Ultrastructural features of human spermatogenesis.

Z. Zellforsch. 98:477-505 (1969)

LACY D.

Light and electron microscopy and its use in the study
of factors influencing spermatogenesis in the rat.

J. R. micr. Soc. 79:209-225 (1960)

LEBLOND C.P. und Y. CLERMONT

Definition of the stages of the cycle of the
seminiferous epithelium in the rat.

Ann. N.Y. Acad. Sci. 55:548-573 (1952)

LEBLOND C.P. und Y. CLERMONT

Spermiogenesis of rat, mouse, hamster and guinea pig as
revealed by the "periodic acid-fuchsin sulfurous acid"
technique.

Am. J. Anat. 90:167-205 (1952)

LEIDL W.

Steuerung der Spermatogenese.

Z. für Tierzüchtung und Züchtungsbiologie 84:273-289 (1968)

LEIDL W. und B. WASCHKE

Comparative aspects of the kinetics of the spermiogenesis.

Fortschritte der Andrologie, Vol 1: Morphological aspects of
Andrology. 1:21-24 (1970)

LENNART N. und L. PLÖEN

Fine structure of spermatogonia and primary
spermatocytes in rabbits.

Z. Zellforsch. 99:221-234 (1969)

LEWIS C.L. und J.F. DICKEY

Electron microscopic observations of acrosome cap
development of the bovine spermatid.

J. Dairy Sci. 51:950 (1968)

MAC KINNON E.A. und P.J. ABRAHAM

The manchette in stage 14 rat spermatids: A possible
structural relationship with the redundant nuclear envelope.

Z. Zellforsch. 124:1-11 (1972)

MARTIN F. und J. BRACHET

Autoradiographic studies on the incorporation of
amino acids into the spermatozoon.

Exp. Cell. Res. 17:399-404 (1959)

MARTIN B.J. und S.S. SPICER

Multivesicular bodies and related structures of
the syncytiotrophoblast of human term placenta.

Anat. Rec. 175:15-36 (1973)

MERKLE U.

Volumometrische Befunde an den Samenzellen und
den Sertoli-Zellen der Ratte.

Z. mikrosk.-anat. Forsch. 63:252-273 (1957)

MEVES F.

Über Struktur und Histogenese der Samenfäden des
Meerschweinchens.

Arch. mikr. Anat. 54:329-402 (1899)

MOLLENHAUER H.H. und W. ZEBRUN

Permanganate fixation of the golgi complex and other
cytoplasmic structures of mammalian testis.

J. Biophys. Biochem. Cytol. 8:761-776 (1960)

MONESI V.

Synthetic activities during spermatogenesis in the mouse.

Exp. Cell Res. 39:197-224 (1965)

MOORE J.E.S.

Mammalian spermatogenesis.

Anat. Anz. 8:683-688 (1893)

MOORE J.E.S.

Some points in the spermatogenesis of Mammalia.

Intern. Monatsschr. Anat. Physiol. 11:129 (1894)

NICANDER L.

A study of multivesicular bodies in the epididymis.

J. Ultrastruct. Res. 14:424-425 (1966)

NIESSING C.

Die Beteiligung von Zentralkörper und Sphäre am Aufbau
des Samenfadens bei Säugetieren.

Arch. mikrosk. Anat. 48:11-143 (1897)

NOWIKOFF A.B.

Lysosomes and related particles.

In: The cell. ed J. Brachet and A.E. Mirsky.

New York and London: Acad. Press (1961)

NOWIKOFF A.B., E. ESSNER und N. QUINTANA

Golgi apparatus and lysosomes.

Fed. Proc. 23, Part 2:1010-1022 (1964)

NOWIKOFF A.B. und W.Y. SHIN

The endoplasmic reticulum in the golgi zone and its relation to microbodies, golgi apparatus and autophagic vacuoles in rat liver cells.

J. Microsc. 3:187-206 (1964)

OAKBERG E.F.

A description of spermiogenesis in the mouse and its use in analysis of the cycle of the seminiferous epithelium and germ cell renewal.

Am. J. Anat. 99:391 (1956)

ORTRAVANT R.

Le cycle spermatogénétique chez le Béliér.

D. Sc. Thesis, Univ. of Paris, Paris (1958)

ORTRAVANT R.

Spermatogenesis and morphology of the spermatozoon.

In: Cole and Cupps: Reproduction in domestic animals.

2. Academic Press. New York (1959)

PEREY B., Y. CLERMONT und C.P. LEBLOND

The wave of the seminiferous epithelium in the rat.
Am. J. Anat. 108:47-77 (1961)

PHILLIPS D.M.

Ultrastructure of spermatozoa of the wooly opossum
CALUROMYS PHILANDER.
J. Ultrastruct. Res. 33:381-397 (1970)

RAMBOURGH A., W. HERNANDEZ und C.P. LEBLOND

Detection of complex carbohydrates in the golgi apparatus
of the rat cells.
J. Cell Biol. 40:395-414 (1969)

REGAUD C.L.

Etudes sur la structure des tubes seminiferes et sur
la spermatogenese chez les Mammiferes.
Arch. Anat. Mikroskop Morphol. Experl. 11:291-431 (1910)

ROOSEN-RUNGE E.C.

Kinetics of spermatogenesis in mammals.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 55:574-584 (1952)

ROOSEN-RUNGE E.C.

Quantitative studies on spermatogenesis in the albino rat.
III. Volume changes in the cells of the seminiferous tubules.
Anat. Rec. 123:385-398 (1955)

ROOSEN-RUNGE E.C.

The process of spermatogenesis in mammals.
Biol. Rev. 37:343-377 (1962)

ROOSEN-RUNGE E.C. und F.D. BARLOW

Quantitative studies on human spermatogenesis.

I. Spermatogonia.

Am. J. Anat. 93:143-169 (1953)

ROSENBLUTH J. und S.L. WISSIG

The distribution of exogenous ferritin in toad spinal ganglia and the mechanism of its uptake by neurons.

J. Cell. Biol. 23:307-325 (1964)

ROSS C. und W. BENDITT

Wound healing and collagen formation. I. Sequential changes in components of guinea pig skin wounds observed in the electron microscope.

J. Biophys. Biochem. Cytol. 11:677-700 (1961)

ROWLEY M.J., J.D. BERLIN und C.G. HELLER

The ultrastructure of four types of human spermatogonia.

Z. Zellforsch. 112:139-157 (1971)

SCHMIDT F.C.

Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen am menschlichen Hoden und Nebenhoden.

Z. Zellforsch. 63:707-727 (1964)

SUD B.N.

The chromatoid body in spermiogenesis.

Quart. J. Microscop. Sci. 102:273-292 (1961 a)

SUD B.N.

Morphological and histochemical studies of the chromatoid body and related elements in spermatogenesis of the rat.

Quart. J. Microscop. Sci. 102:495-505 (1961 b)

SUSI F.R. und Y. CLERMONT

Fine structural modifications of the rat chromatoid body during spermiogenesis.

Am. J. Anat. 129:177-192 (1971)

SWIERSTRA E.E.

Cytology and duration of the cycle of the seminiferous epithelium of the boar; duration of the spermatozoon transit through the epididymis.

Anat. Rec. 161:124-136 (1968)

SWIERSTRA E.E. und R.T. FOOTE.

Cytology and kinetics of spermatogenesis in the rabbit.

J. Reprod. Fertil. 5:309-322 (1963)

SWIFT H.

Fine structure of annulate lamellae.

J. Biophys. Biochem. Cytol. 2(Suppl.) :415-418 (1956)

SWIFT H. und Z. HRUBAN

Focal degradation as biological process.

Fed. Proc. 23, Part. 2:1026-1037 (1964)

TOBIAS P.V.

Chromosomes, sex-cells and evolution in a mammal.

Humphry, London (1957)

TIBA T.

Methodologisch orientierte quantitative Untersuchungen der Spermatogenese beim Bullen.

Jap. J. Vet. Res. 13 (1965)

TRES L.L. und A.J. SOLARI

The ultrastructure of the nuclei and the behaviour
of the sex chromosomes of human spermatogonia.
Z. Zellforsch. 91:75-89 (1968)

VILAR O.

Fine structure of the germinal cells of the human testis.
Anat. Rec. 157:336 (A) (1967)

WASCHKE B.

Vergleichende quantitative Untersuchungen der Sperma-
togenese bei Mann, Bulle, Schafbock und Eber.
Med.-Vet. Dissertation (1971)

WATSON M.L.

Spermatogenesis in the adult albino rat as revealed
in tissue sections in the electron microscope.
Univ. Rochester, Atomic. Energy Project (1952)

WATSON M.L. und W.G. ALDRIDGE

Methods for the use of indium as an electron stain
for nucleic acids.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 1:257-272 (1961)

WERNER G.

Ein Komplex multivesikulärer Körper und seine Rolle während
der Spermiogenese bei DYTISCUS MARGINALIS L. (Coleoptera).
Mikroskopie 32:351-362 (1976)

YASUZUMI G.

Spermatogenesis in animals as revealed by electron microscope: 1. Formation of submicroscopic structure of the middle piece of the albino rat.

J. Biophys. Biochem. Cytol. 2:445-449 (1956)

YASUZUMI G., I. TSUBO, F. YASUZUMI und Y. MATANO

Spermatogenesis in animals as revealed by electron microscopy. XX. Relationship between chromatoid bodies and centriol adjunct in spermatids of grasshopper, ACRIDA LATA.

Z. Zellforsch. 110:231-242 (1970)

YASUZUMI G., S. SHIRAIWA und H. YAMAMOTO

Spermatogenesis in animals as revealed by electron microscopy. XXVII. Development of the neck region and flagellum of the cat spermatozoon.

Z. Zellforsch. 125:497-505 (1972)

7. BILDANHANG

Bildbeschriftungen

Bm	=	Basalmembran
SZ	=	Sertolizelle
SP	=	Spermatogonie
Sz I	=	primärer Spermatozyt
Sz II	=	sekundärer Spermatozyt
S	=	Spermatide
Sp	=	Spermium
RK	=	Residual-Körper
N	=	Nukleus
Nl	=	Nukleolus
Km	=	Kernmembran
Hc	=	Heterochromatin
Ec	=	Euchromatin
Cp	=	Chromoplast
SK	=	synaptonemaler Komplex
PcG	=	Parachromatingranula
Plm	=	Plasmalemm
M	=	Mitochondrien
G	=	Golgi-Apparat
ER	=	endoplasmatisches Retikulum
R	=	Ribosomen
Z	=	Zentriol
Lk	=	Lamellenkörperchen
MK	=	multivesikulärer Körper
CK	=	Chromatoid-Körper
IZ	=	"intermitochondriale Zwischensubstanz"
Sat	=	Satellit des Chromatoid-Körpers
A	=	Akrosom
paV	=	proakrosomaler Vesikel
AV	=	Akrosomenvakuole
AG	=	Akrosomengranulum
AK	=	Akrosomenkappe
äAm	=	äußere Akrosomenmembran
iAm	=	innere Akrosomenmembran
saR	=	subakrosomaler Raum
P	=	Perforatorium
Ma	=	Manschette
An	=	Anulus
Vs	=	Verbindungsstück
IG	=	Implantationsgrube
Bp	=	Basalplatte
Fl	=	Flagellum
H	=	Hauptabschnitt des Akrosoms
Ap	=	apikaler Abschnitt des Akrosoms
Äs	=	Äquatorialsegment
Pa	=	postakrosomaler Abschnitt des Spermienkopfes

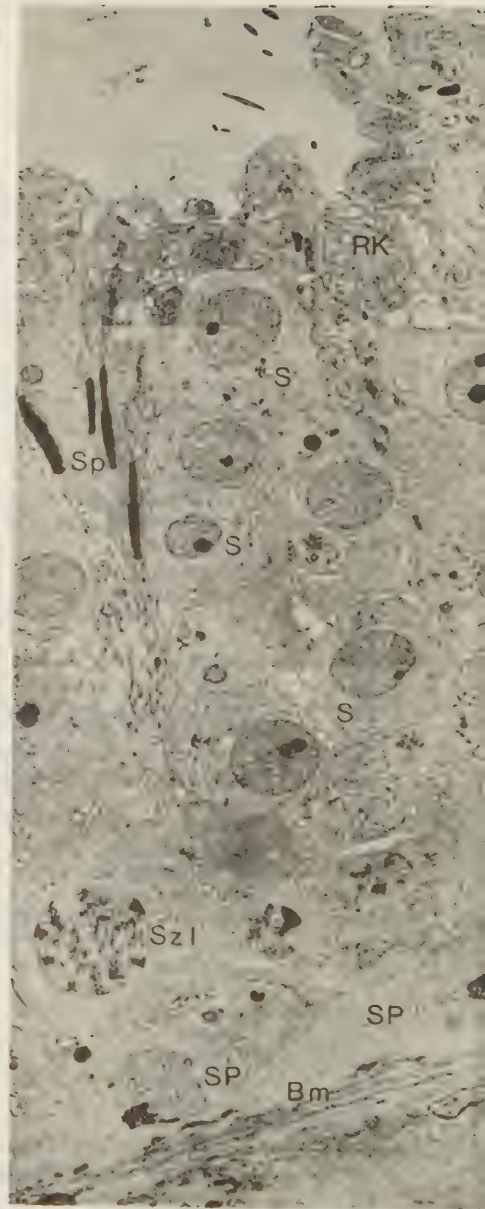
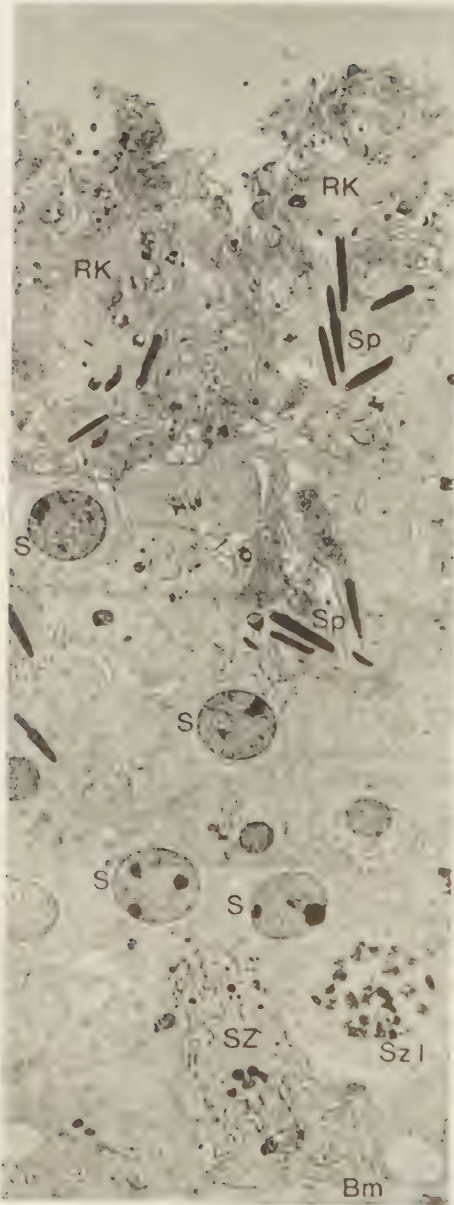


Abb.1 (l.): Ultrastruktur des Keimepithels in der Phase 1 des Keimepithelzyklus.(x 2.500)

Abb.2 (r.): Ultrastruktur des Keimepithels in der Phase 2 des Keimepithelzyklus.(x 2.500)

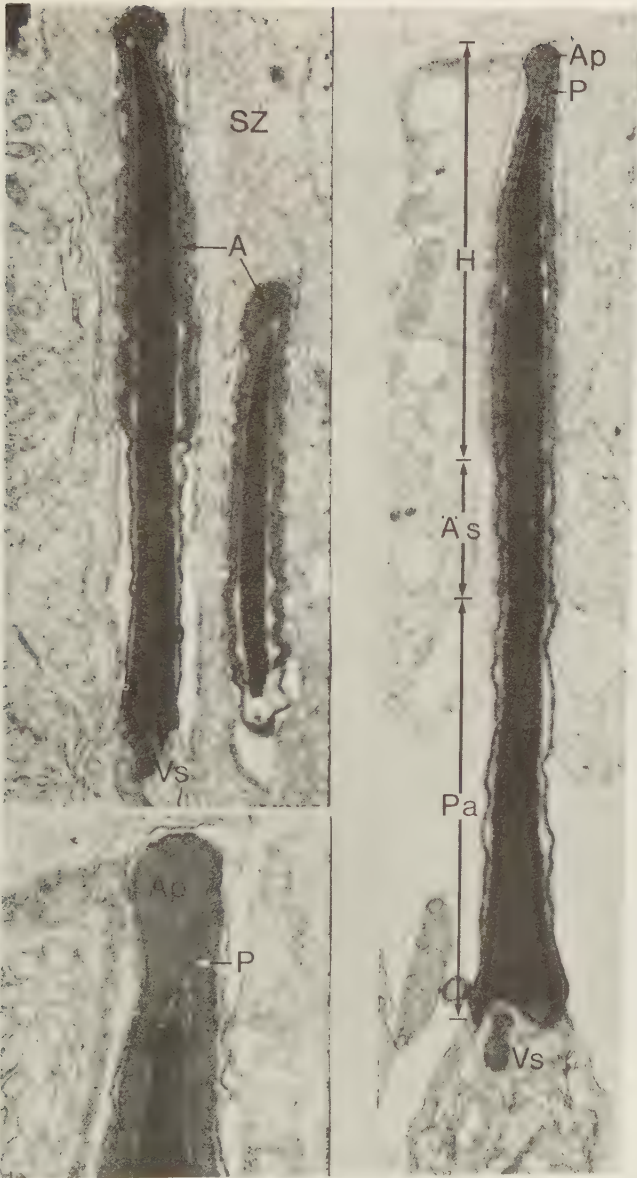


Abb.57 (l.o.): Spermatiden am Ende der Reifungs-Phase.
(x 22.500)

Abb.58 (l.u.): Apikales Ende eines Spermiums kurz vor
Verlassen des Epithelverbandes.(x 57.000)

Abb.59 (r.): Spermium kurz vor Verlassen des Epithel-
verbandes.(x 22.500)

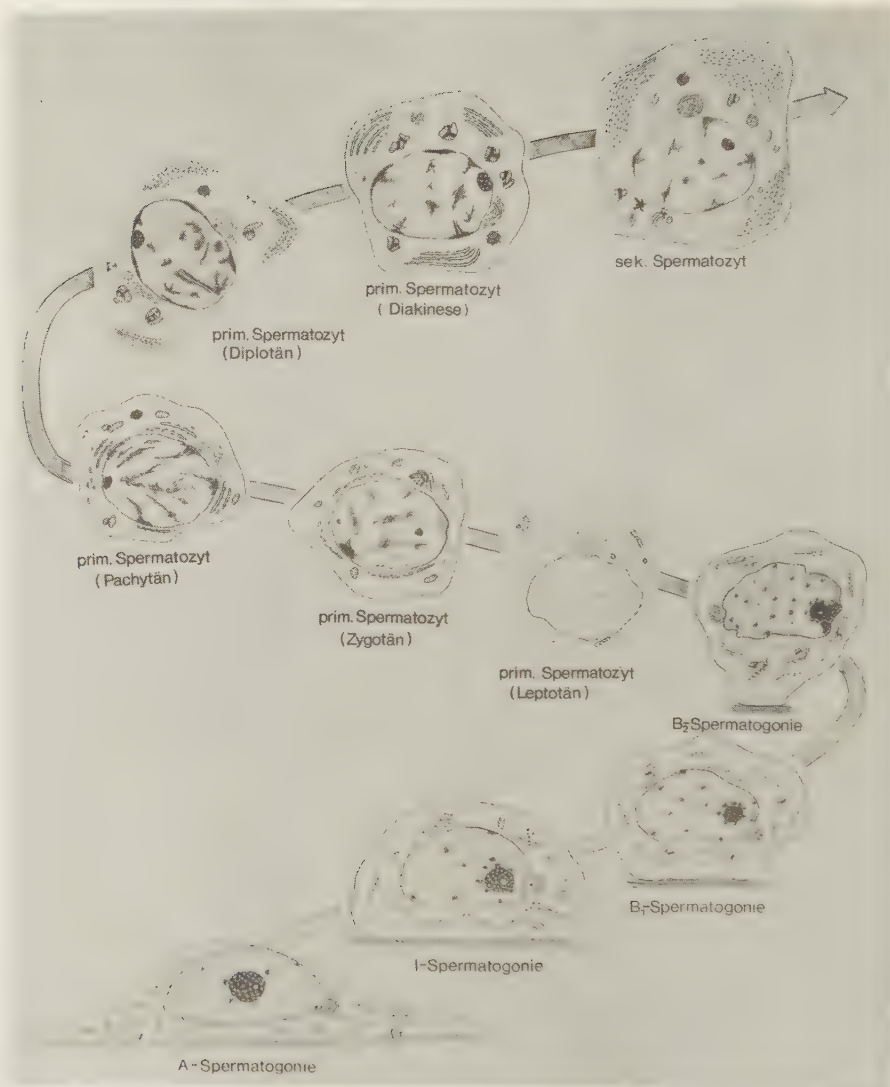


Abb.60: Halbschematische Darstellung charakteristischer Zelltypen innerhalb der Spermatogenese des Rindes.(ca. x 3.000)

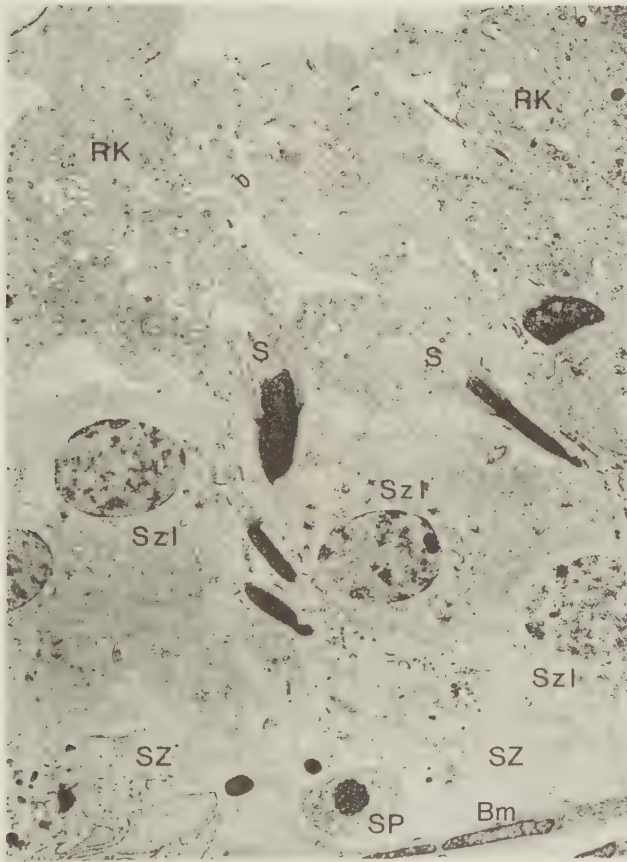


Abb.7: Ultrastruktur des Keimepithels in der Phase 7
des Keimepithelzyklus. (x 2.500)



Abb.8 (l.): Ultrastruktur des Keimepithels in der frühen Phase 8 des Keimepithelzyklus.(x 2.500)

Abb.9 (r.): Ultrastruktur des Keimepithels in der späten Phase 8 des Keimepithelzyklus.(x 2.500)

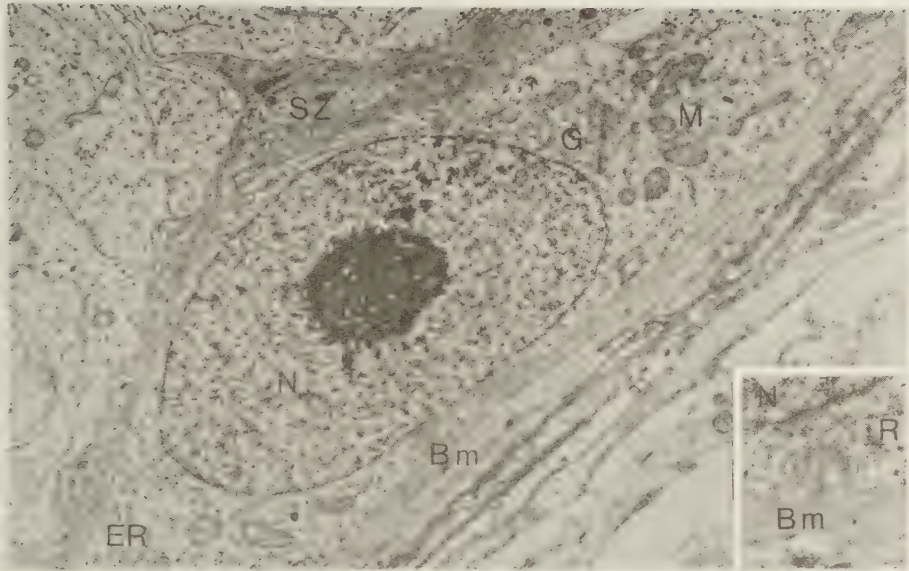


Abb.10: Ultrastruktur einer A-Spermatogonie.(x 9.000)

Abb.11 (r.u.): Pilzförmige Ausstülpung der Basalmembran im Bereich einer A-Spermatogonie.(x 18.000)

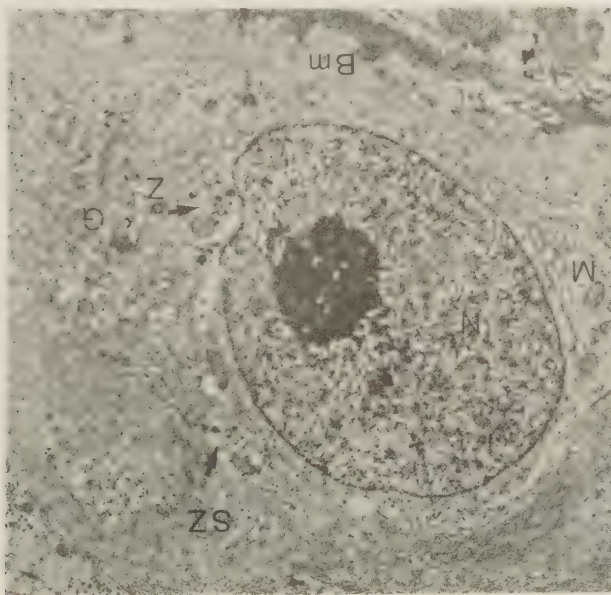


Abb.12: Ultrastruktur einer I-Spermatogonie.
Anhäufung von Lysosomen (↔).(x 9.000)

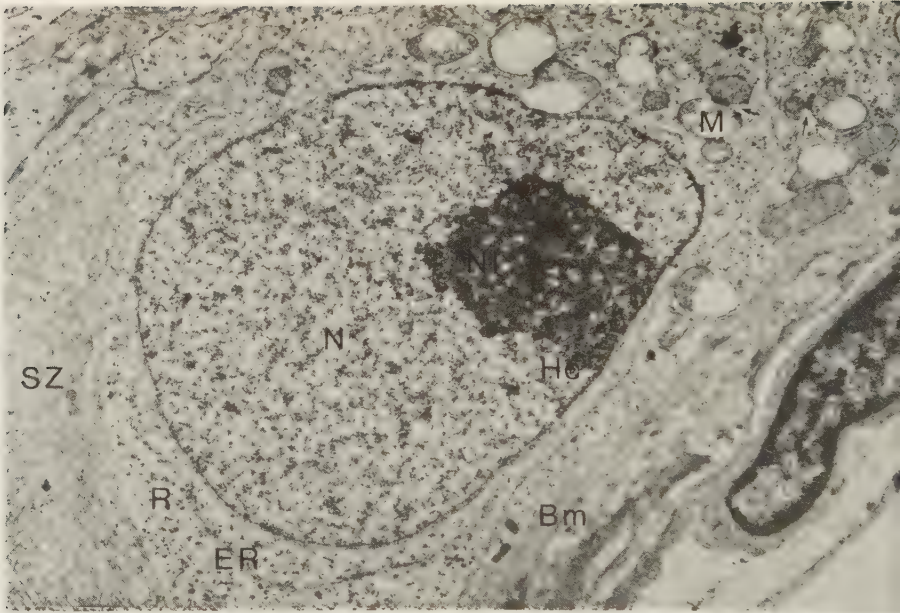


Abb.13: Ultrastruktur einer B₁-Spermatogonie. Intermitochondriale Zwischensubstanz (→). (x 12.000)

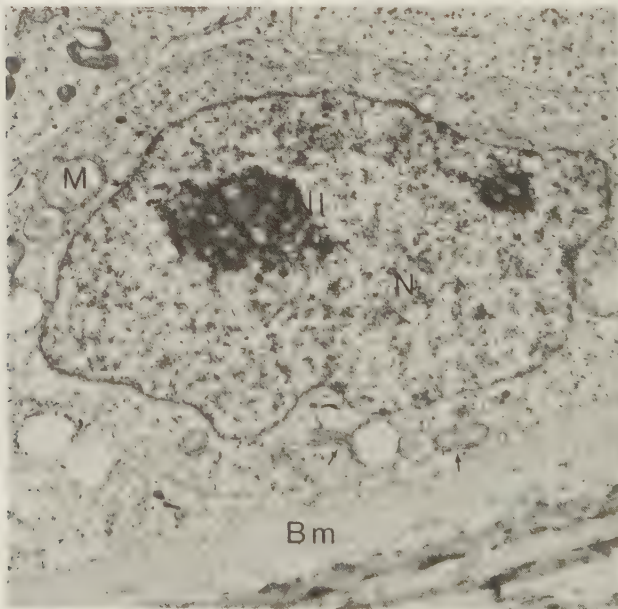


Abb.14: Ultrastruktur einer B₂-Spermatogonie. Eng an die Mitochondrien angelegtes ER. (→). (x 12.000)

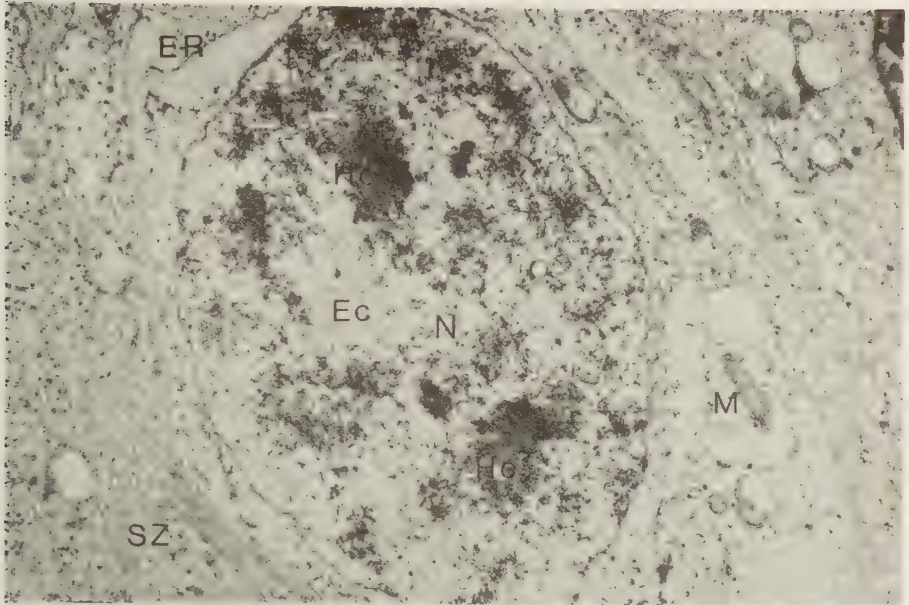


Abb.15: Ultrastruktur eines primären Spermatozyten im Präleptotän.
(x 12.000)

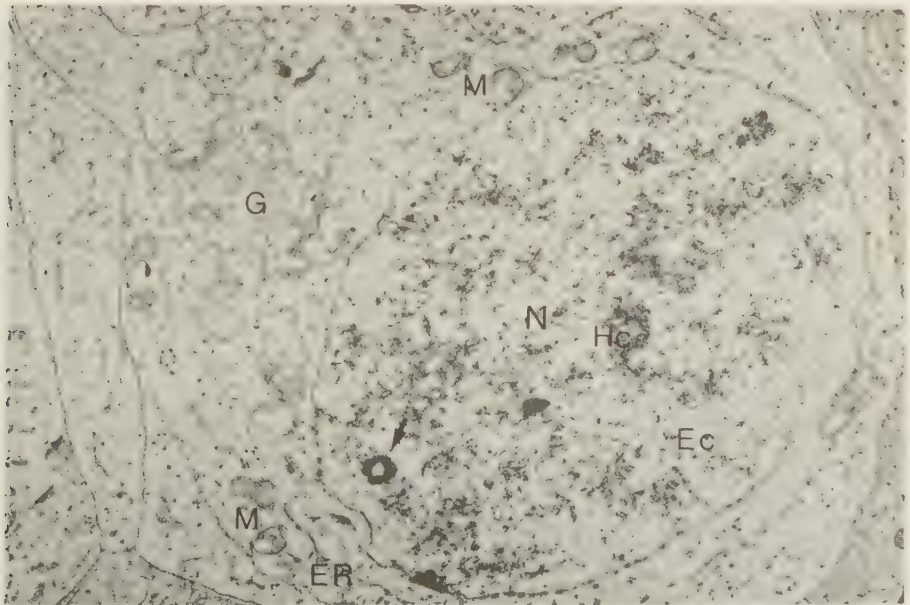


Abb.16: Ultrastruktur eines primären Spermatozyten im Leptotän.
Ringförmige Chromatinverdichtung (↔).(x 12.000)

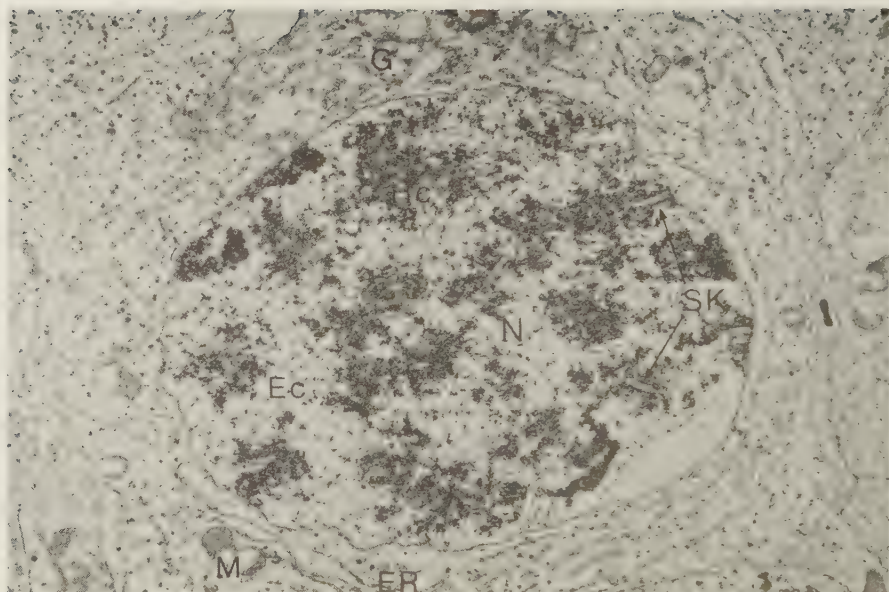


Abb.17: Ultrastruktur eines primären Spermatozyten im Zygotän.(x 12.000)

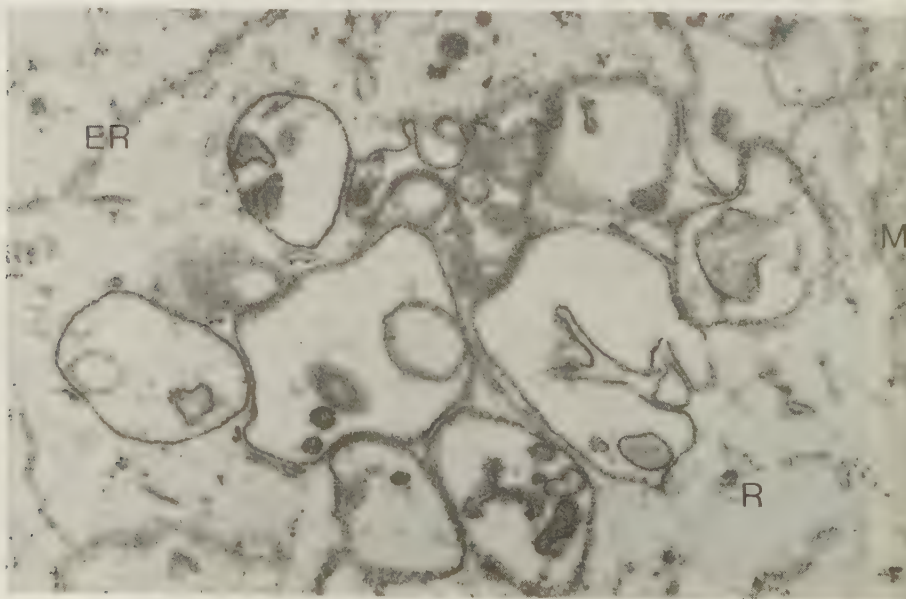


Abb.18: Entstehung multivesikulärer Körper in primären Spermatozyten im Zygotän.(x 44.000)

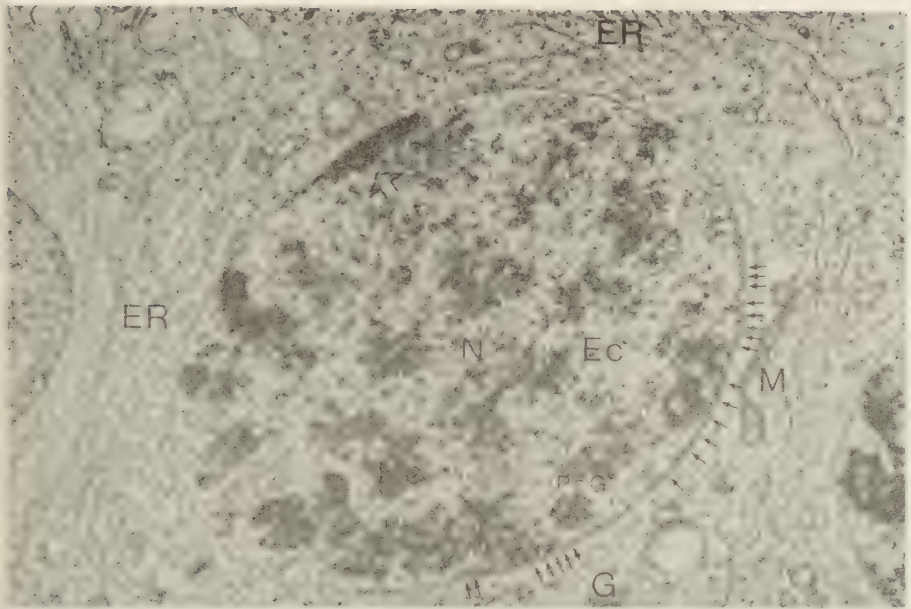


Abb.19: Ultrastruktur eines primären Spermatozyten im frühen Pachytän. Anhäufung von Kernporen ($\leftrightarrow$). Heterochromatinanlagerungen an der inneren Kernmembran ($\nearrow$). (x 12.000)

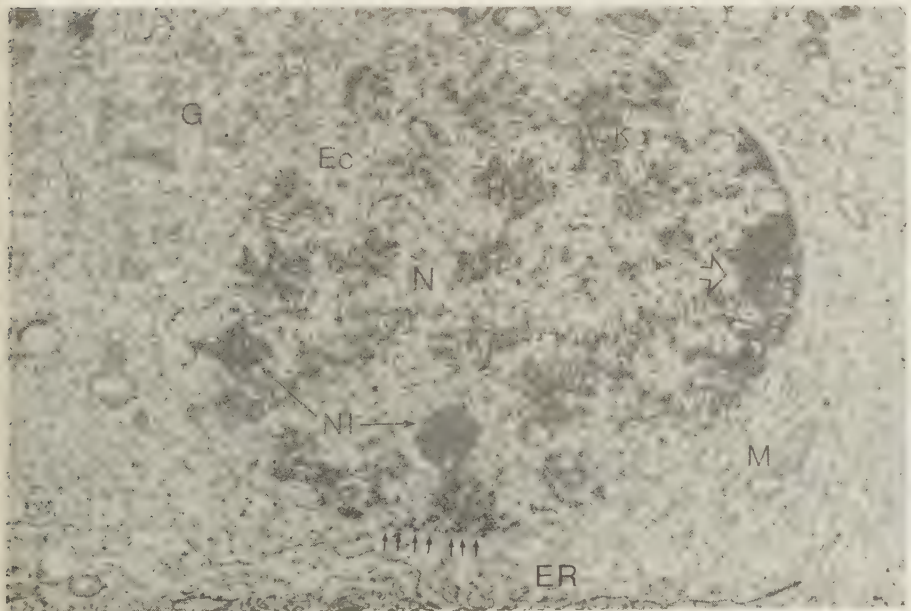


Abb.20: Ultrastruktur eines primären Spermatozyten im Pachytän. Anhäufung von Kernporen ($\leftrightarrow$). Heterochromatinanlagerungen an der inneren Kernmembran ($\nearrow$). (x 12.000)

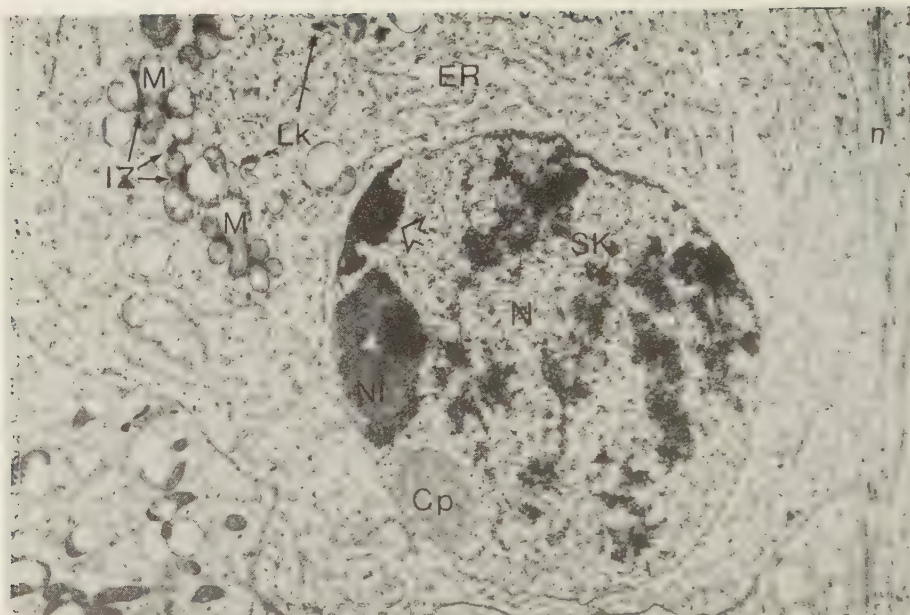


Abb.21: Ultrastruktur eines primären Spermatozyten im späten Pachytän. Heterochromatinanlagerungen an der inneren Kernmembran (↑). (x 12.000)

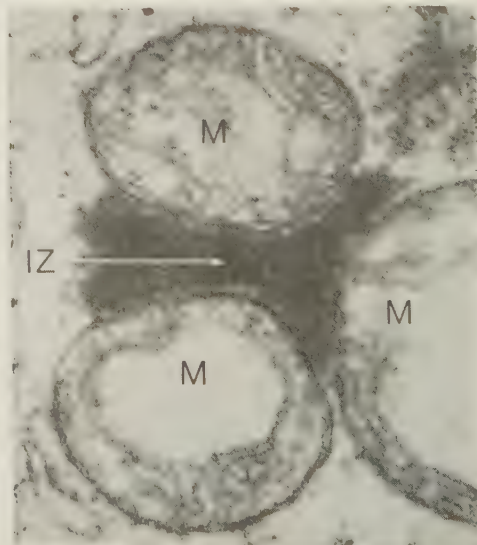
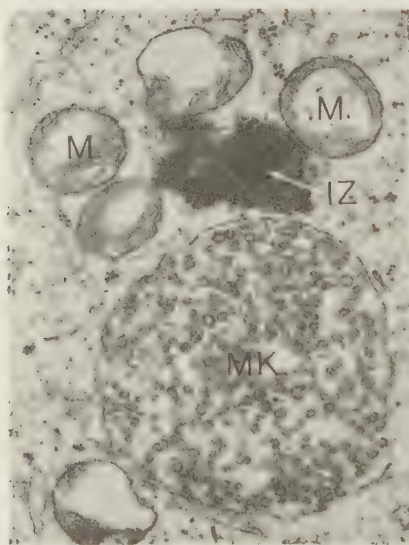


Abb.22 (l.): Multivesikulärer Körper (helle Form) und Bildung des Chromatoid-Körpers in primären Spermatozyten im späten Pachytän.(x 38.000)

Abb.23 (r.): Intermitochondriale Zwischensubstanz in Mitochondriengruppen primärer Spermatozyten im späten Pachytän.(x 120.000)

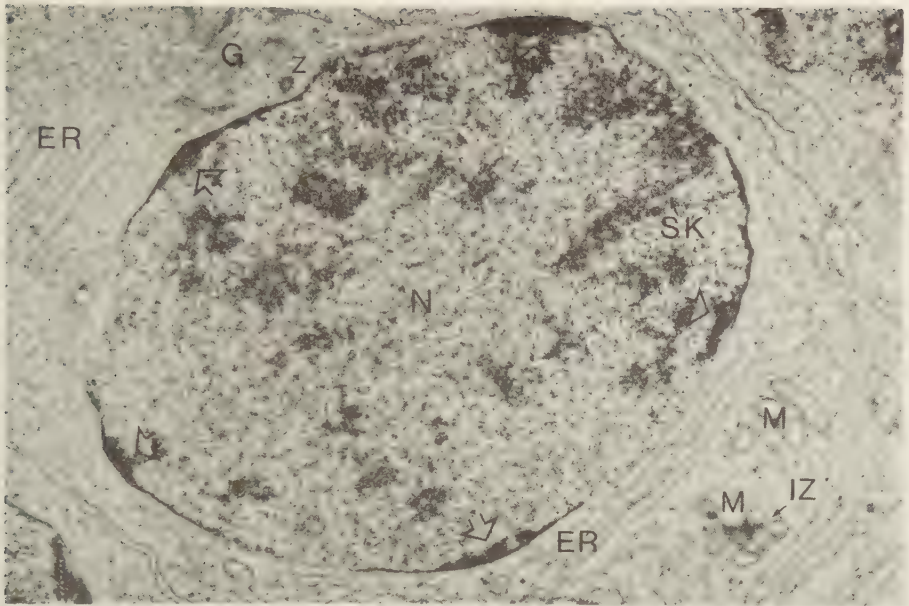


Abb.24: Ultrastruktur eines primären Spermatozyten im Diplotän. Heterochromatinanlagerungen an der inneren Kernmembran (↗). (x 12.000)

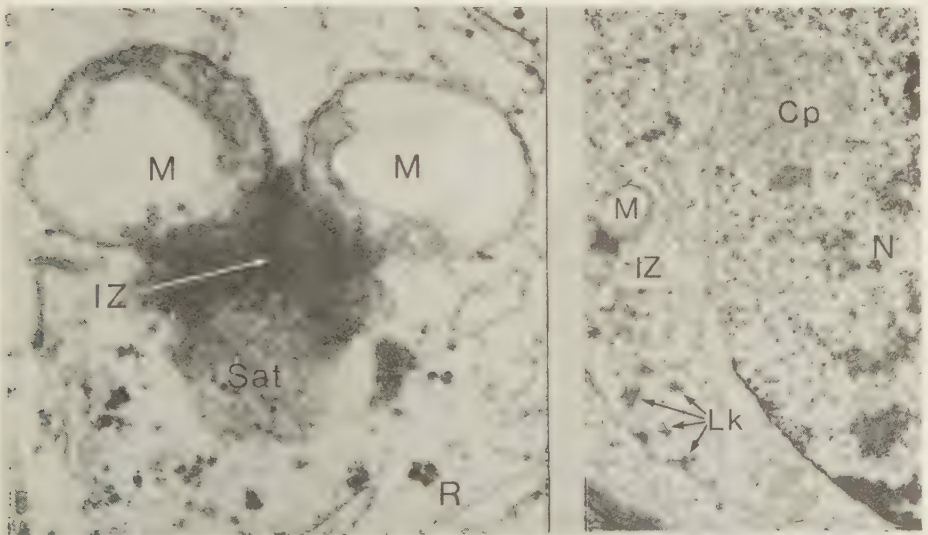


Abb.25 (l.): Bildung des Chromatoid-Körpers und seines Satelliten in primären Spermatozyten im Diplotän. (x 70.000)

Abb.26 (r.): Ausschnitt aus einem primären Spermatozyt im Diplotän. (x 18.000)

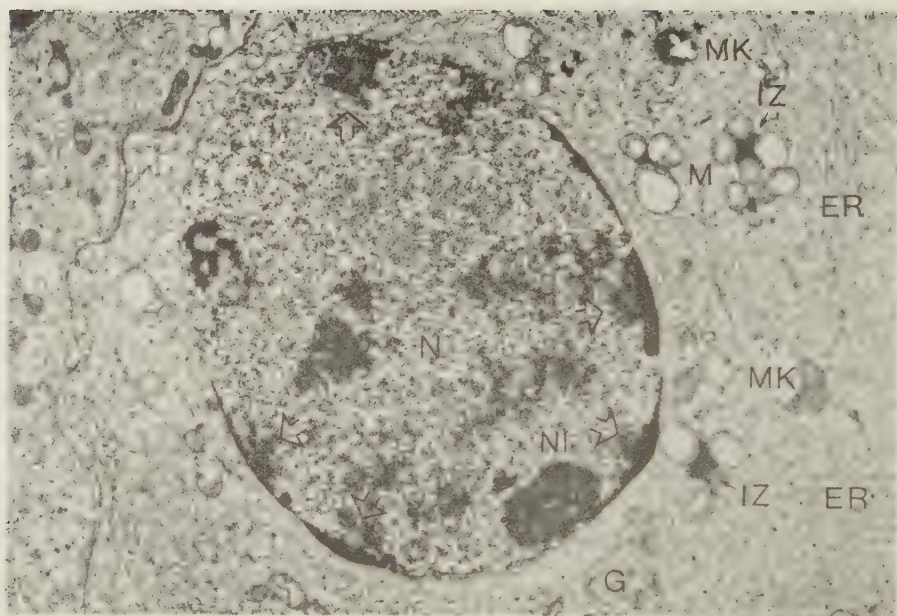


Abb.27: Ultrastruktur eines primären Spermatozyten in der Diakinese. Heterochromatinanlagerungen an der inneren Kernmembran (↗). (x 12.000)

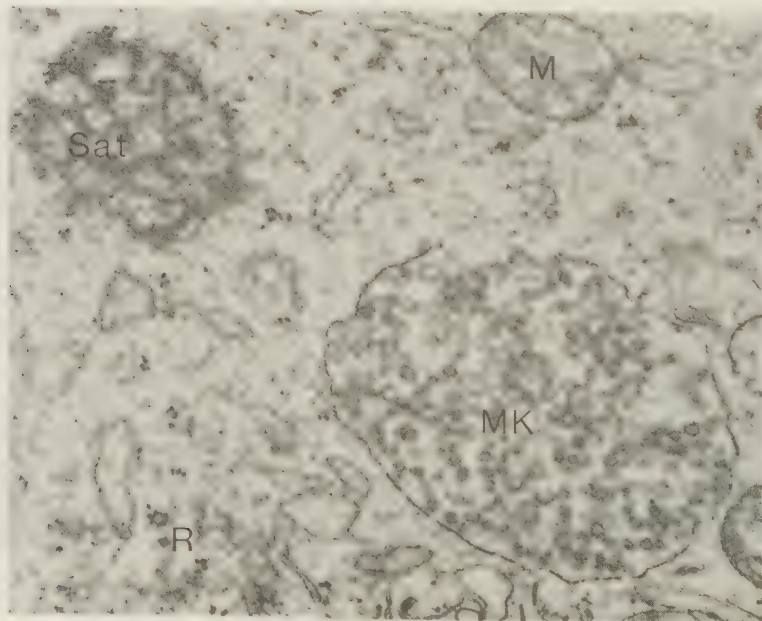


Abb.28: Multivesikulärer Körper (helle Form) und Satellit des Chromatoid-Körpers in einem primären Spermatozyt in der Diakinese. (x 48.000)

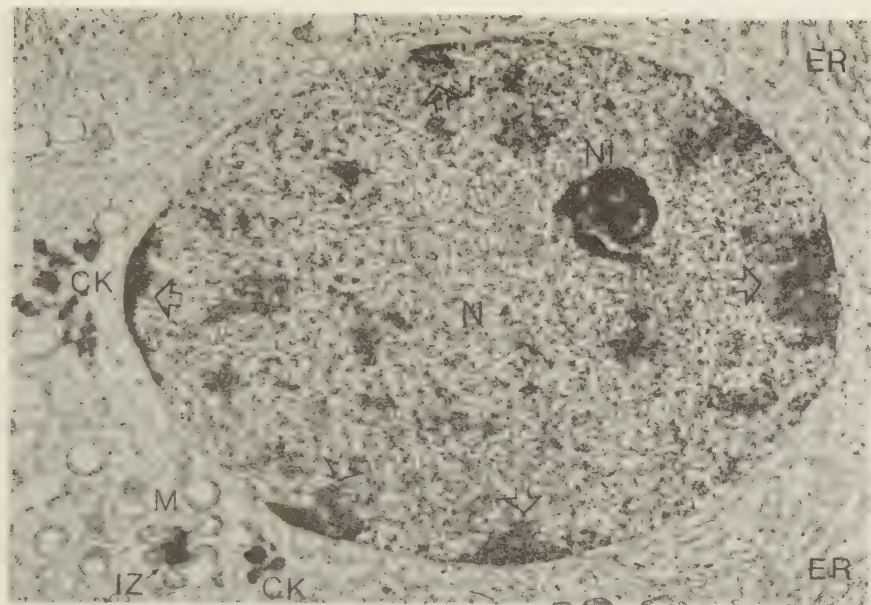


Abb.29: Ultrastruktur eines sekundären Spermatozyten. Heterochromatinanlagerungen an der inneren Kernmembran ($\blacktriangledown$). (x 12.000)

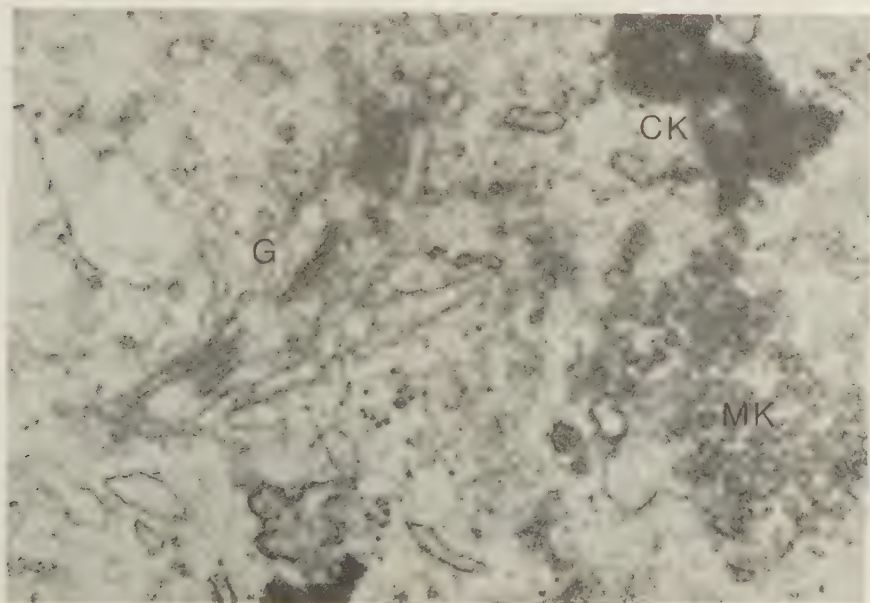


Abb.30: Golgi-Apparat, Chromatoid-Körper und Vorstufen eines multivesikulären Körpers (helle Form) in einem sekundären Spermatozyt. (x 70.000)

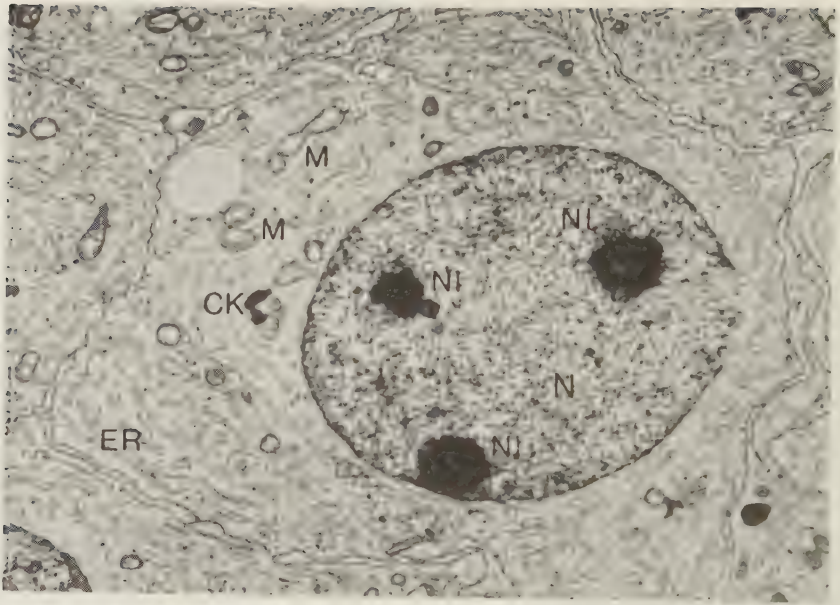


Abb.31: Ultrastruktur einer Spermatide in der Initial-Phase.
(x 12.000)

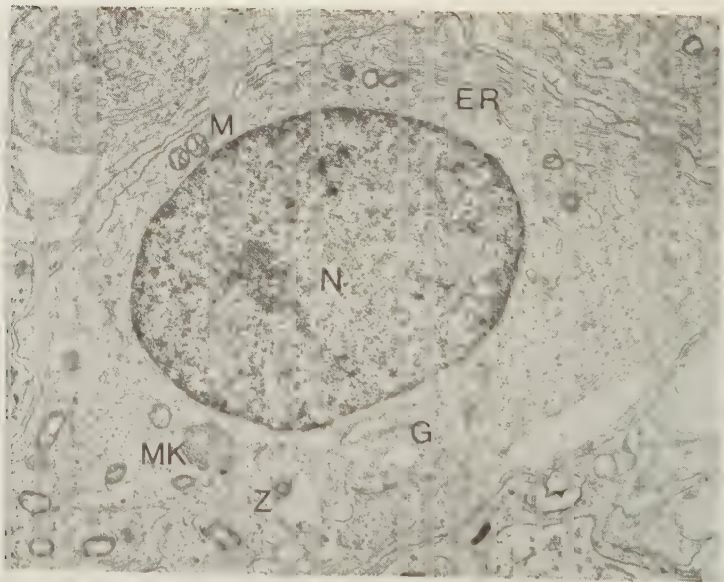


Abb.32: Anschnitt einer Spermatide in der Initial-Phase.
(x 12.000)

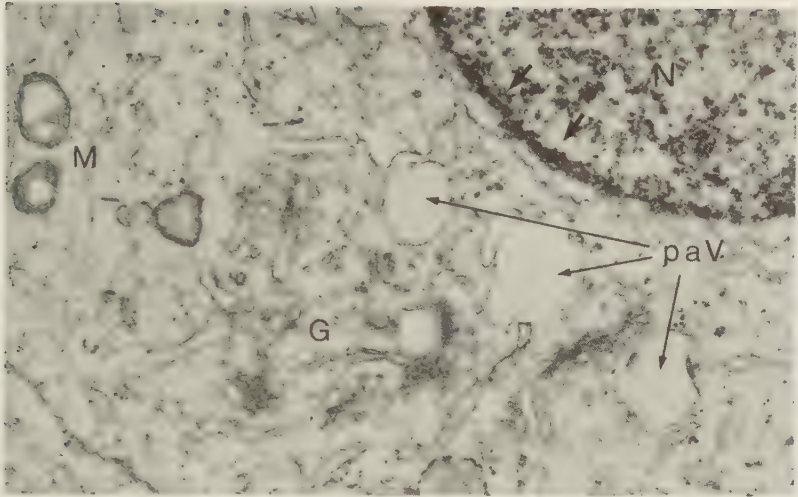


Abb.33: Golgi-Apparat einer Spermatide in der Initial-Phase.
Heterochromatinverdichtungen an der inneren Kernmembran(◄).
(x 32.000)

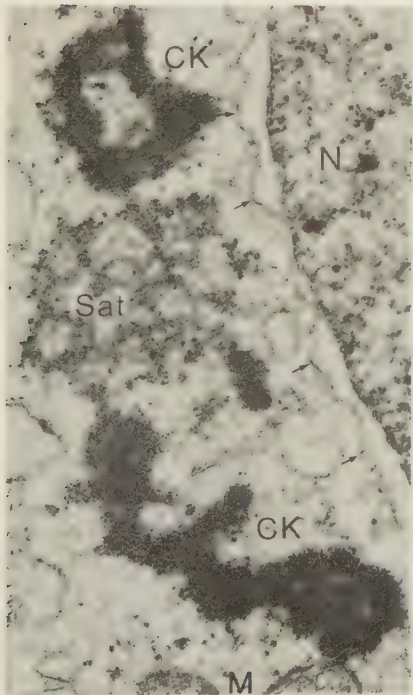


Abb.34: Chromatoid-Körper und dessen Satellit in einer Spermatide in der Initial-Phase.Äußere Kernmembran (↔).(x 32.000)

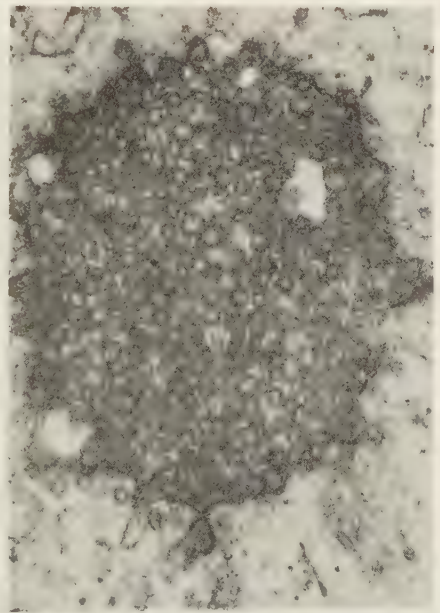


Abb.35: Multivesikulärer Körper (dunkle Form) einer Spermatide in der Initial-Phase.(x 57.000)

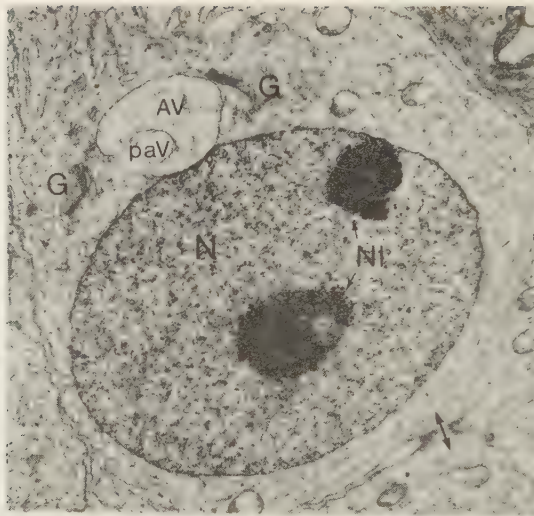


Abb.36 (l.): Spermatide in der ausgeprägten Golgi-Phase.
Zellbrücke(↔).(x 12.000)

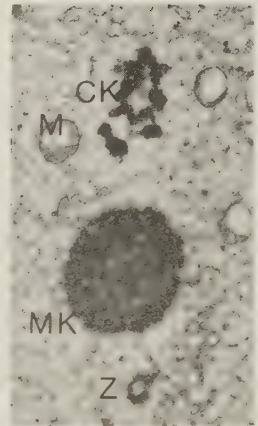


Abb.37 (r.): Chromatoid-Körper und multivesikulärer Körper einer Spermatide in der ausgeprägten Golgi-Phase.(x 18.000)

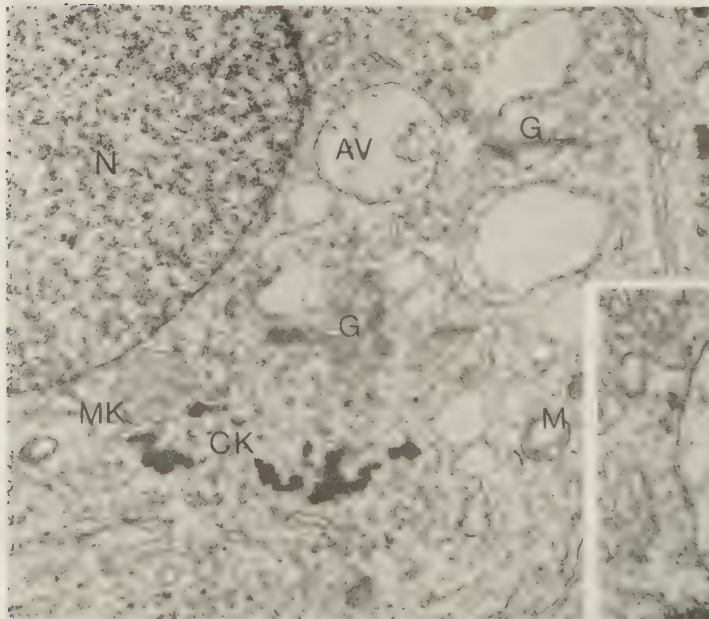


Abb.38: Golgi-Apparat einer Spermatide in der ausgeprägten Golgi-Phase.
(x 18.000)

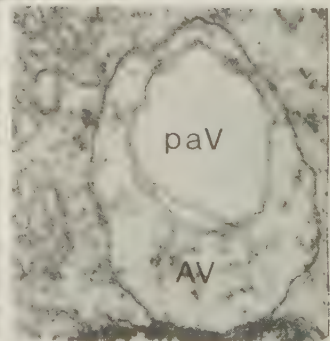


Abb.39 (r.u.): Akrosomenvakuole einer Spermatide in der ausgeprägten Golgi-Phase.(x 48.000)

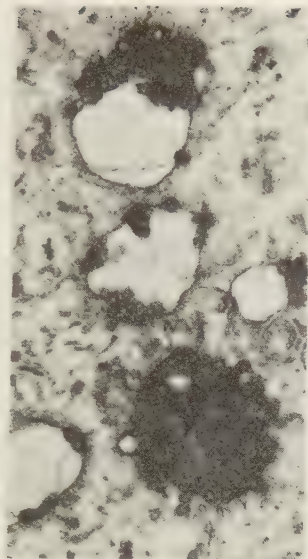
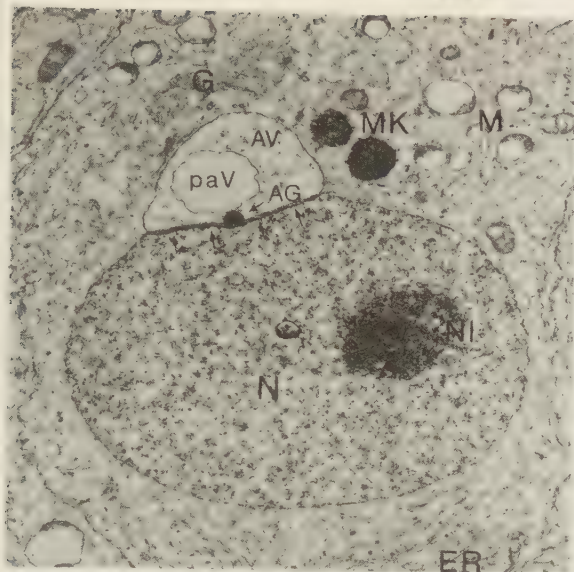


Abb.40 (l.): Spermatide am Ende der Golgi-Phase. Heterochromatinanlagerungen an der inneren Kernmembran ($\leftrightarrow$). (x 12.000)

Abb.41 (r.): Entwicklung multivesikulärer Körper (dunkle Form) in Spermatiden am Ende der Golgi-Phase. (x 40.000)

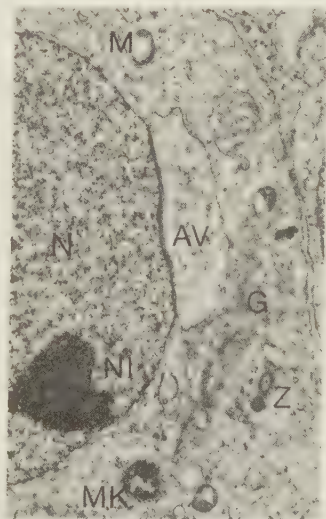
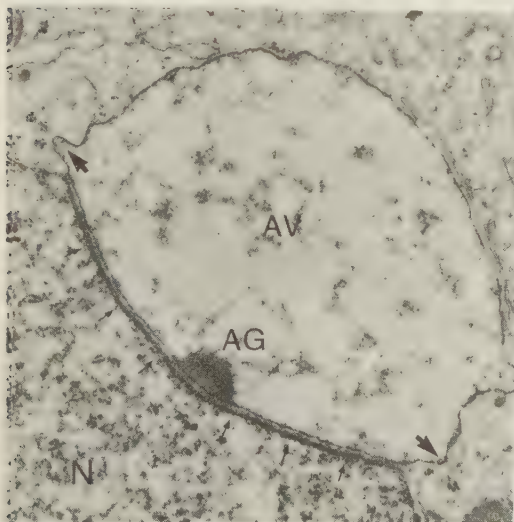


Abb.42 (l.): Akrosomenvakuole einer Spermatide am Ende der Golgi-Phase. Heterochromatinanlagerungen an der inneren Kernmembran ($\leftrightarrow$). Wachstumszone der Akrosomenvakuole ($\blackleftarrow$). (x 32.000)

Abb.43 (r.): Ausschnitt aus einer Spermatide im Übergang von der Golgi- zur Kappen-Phase. (x 12.000)

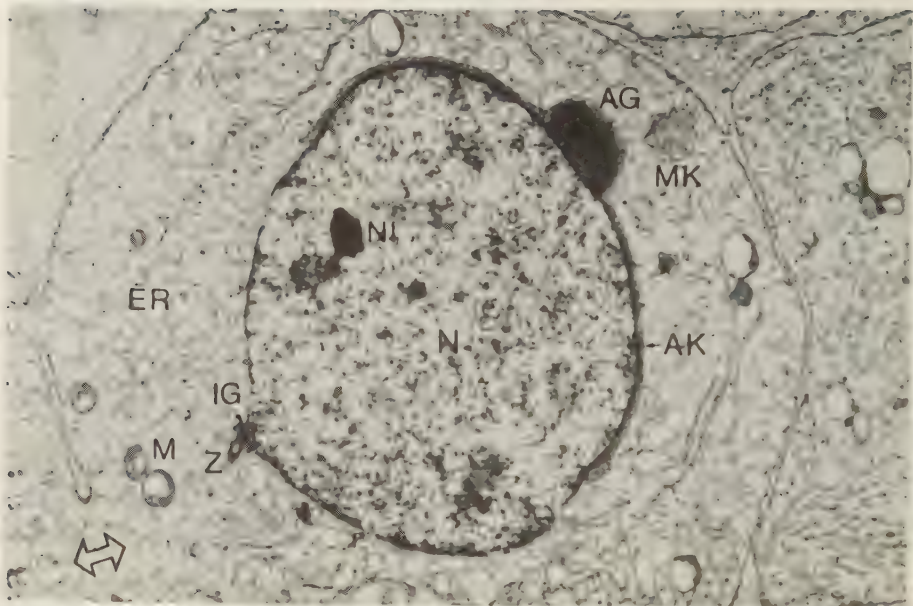


Abb.44: Spermatide in der Kappen-Phase. Zellbrücke (↔). (x 12.000)

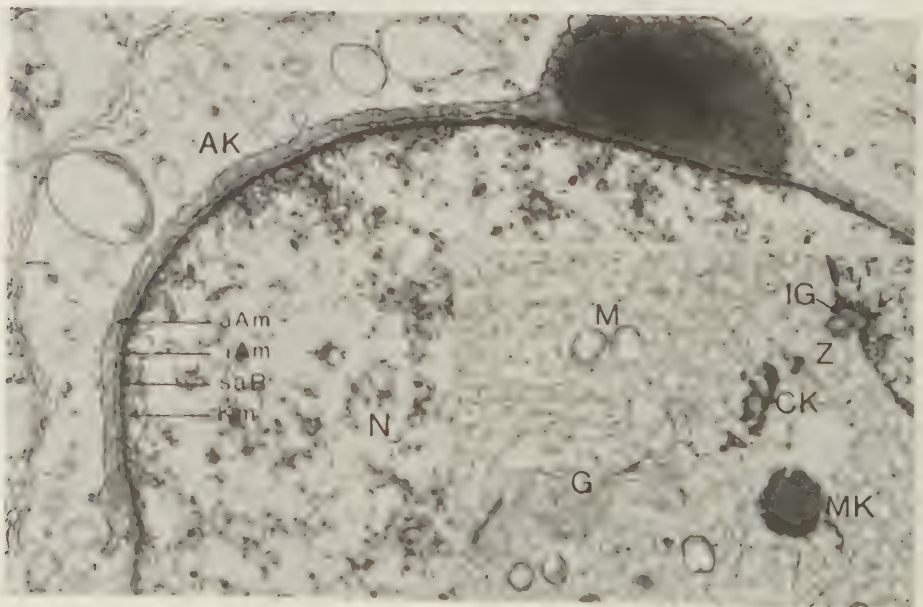


Abb.45: Akrosomenanlage einer Spermatide in der Kappen-Phase. (x 32.000)

Abb.46: (r.u.): Ausschnitt aus dem distalen Zellabschnitt einer Spermatide in der Kappen-Phase. Heterochromatinanlagerungen im Bereich der Implantationsgrube (←). (x 12.000)

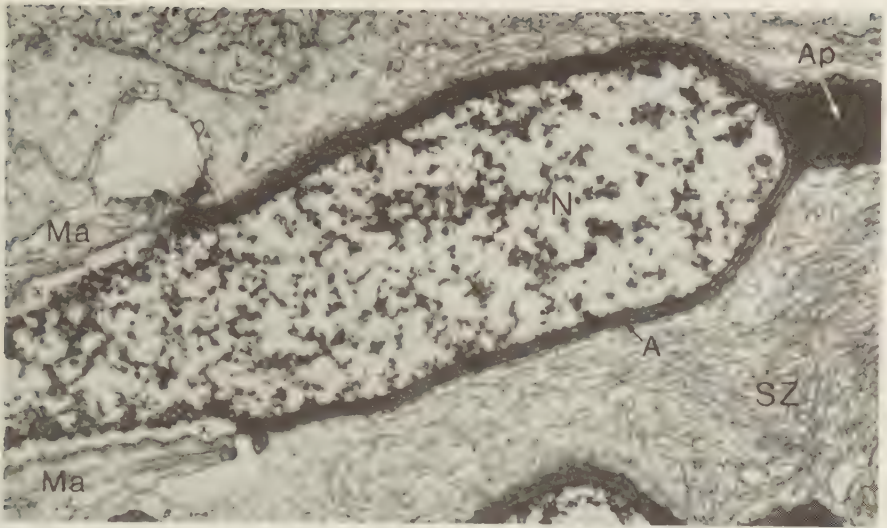


Abb.47: Spermatide in der frühen Akrosom-Phase. Chromatinfreier Raum im postakrosomalen Kernbereich (X). (x 18.000)

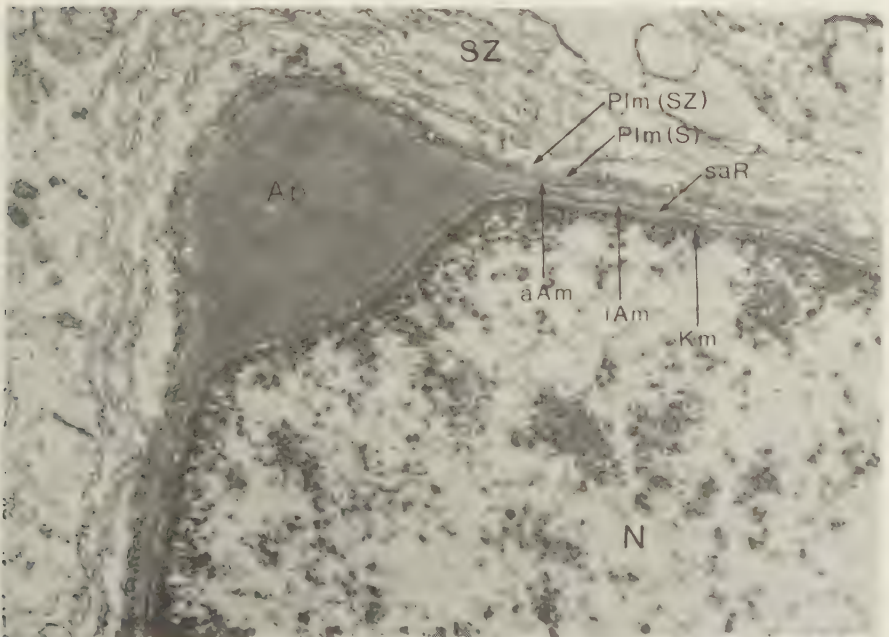


Abb.48: Apikaler Abschnitt einer Spermatide in der frühen Akrosom-Phase. (x 48.000)

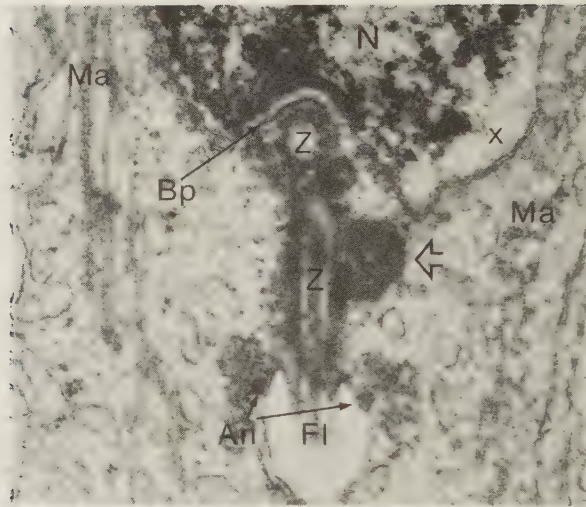


Abb.49: Halsbereich einer Spermatide in der frühen Akrosom-Phase. Chromatinfreier Raum im postakrosomalen Kernbereich (X). Parazentriolarkörper (↕). (x 48.000)

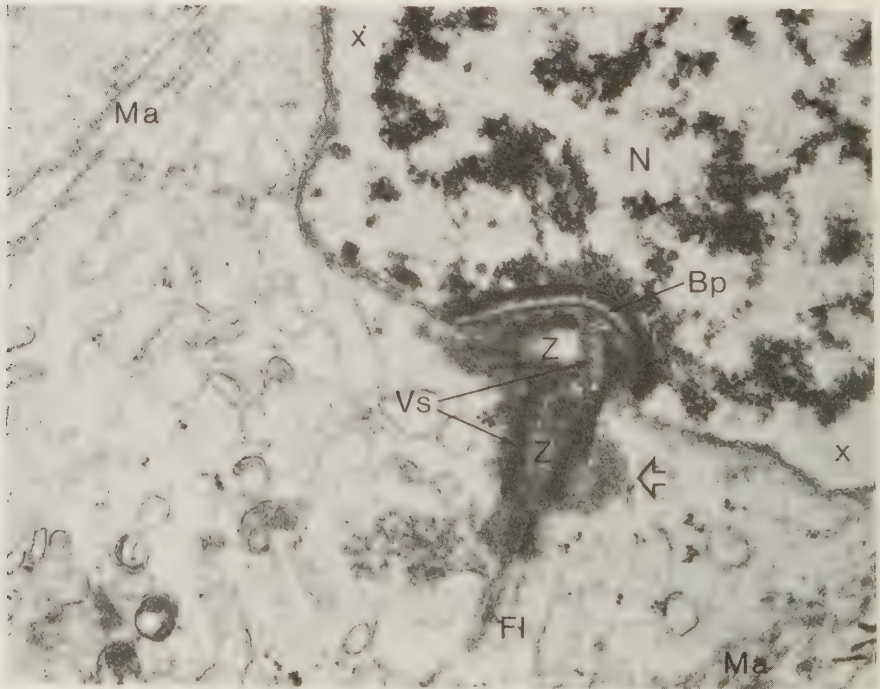


Abb.50: Halsbereich einer Spermatide zu einem etwas späteren Zeitpunkt als in Abb.49. Chromatinfreier Raum im postakrosomalen Kernbereich (X). Parazentriolarkörper (↕). (x 48.000)

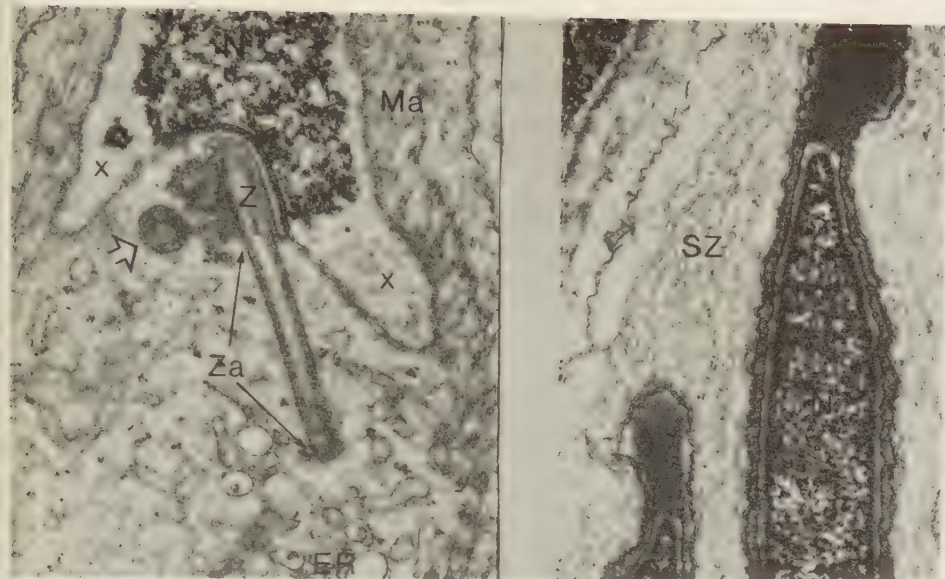


Abb.51 (l.): Schrägschnitt durch den Halsbereich einer Spermatide in der ausgeprägten Akrosom-Phase mit Sagittalschnitt durch den Zentriolaranhang (Za). Chromatinfreier Raum im postakrosomalen Kernbereich (X). Parazentriolarkörper (↗). (x 32.000)

Abb.52 (r.): Vergrößerte apikale Enden von Spermatiden aus Abb.53. (x 32.000)

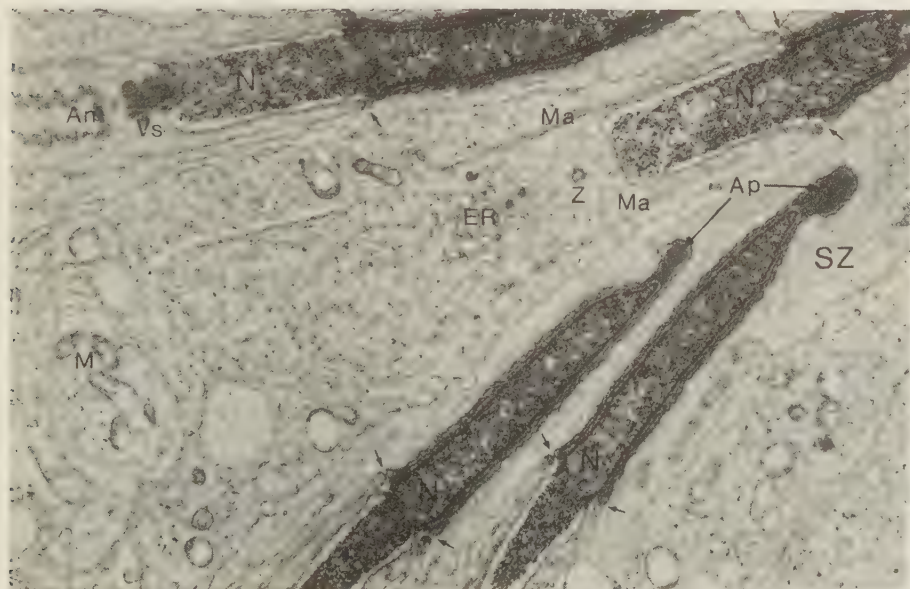


Abb.53: Spermatiden am Ende der Akrosom-Phase. Rinnenbildung durch den perinukleären Endwulst des Akrosoms und den Anfangswulst der Manschette (↔). (x 12.000)

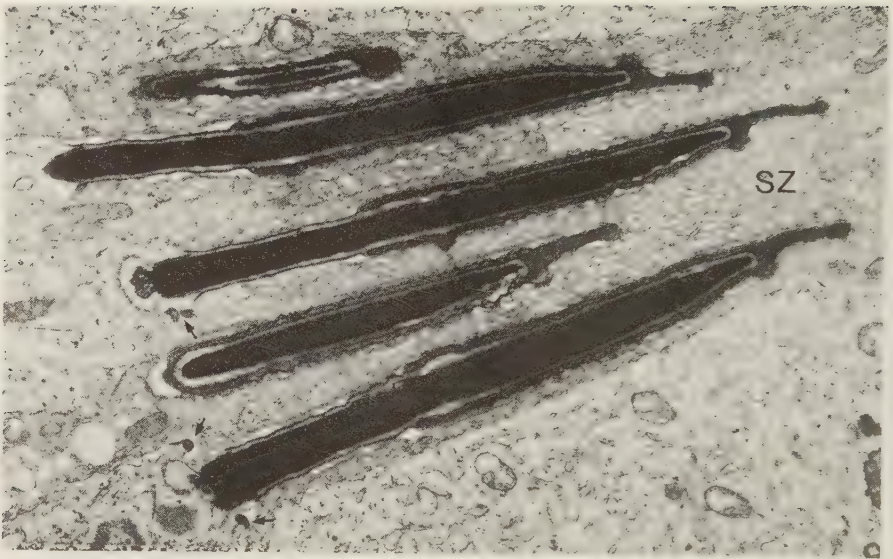


Abb.54: Spermatiden in der beginnenden Reifungs-Phase.
 Reste des Anfangswulstes der Manschette ($\leftrightarrow$). (x 15.000)

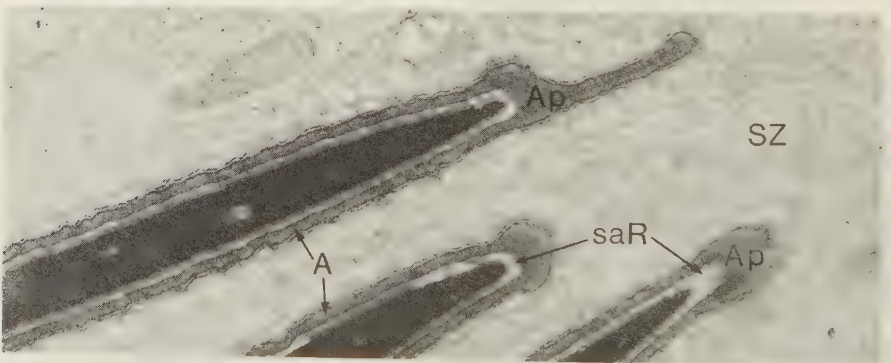


Abb.55: Spermatiden in der beginnenden Reifungs-Phase (Ausschnittvergrößerung). (x 32.000)

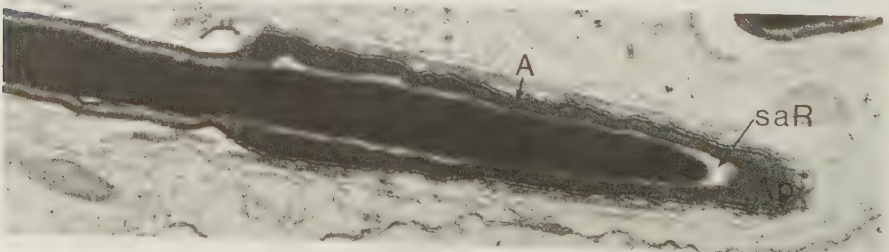


Abb.56: Kopfabschnitt einer Spermatide in der fortgeschrittenen Reifungs-Phase. (x 32.000)

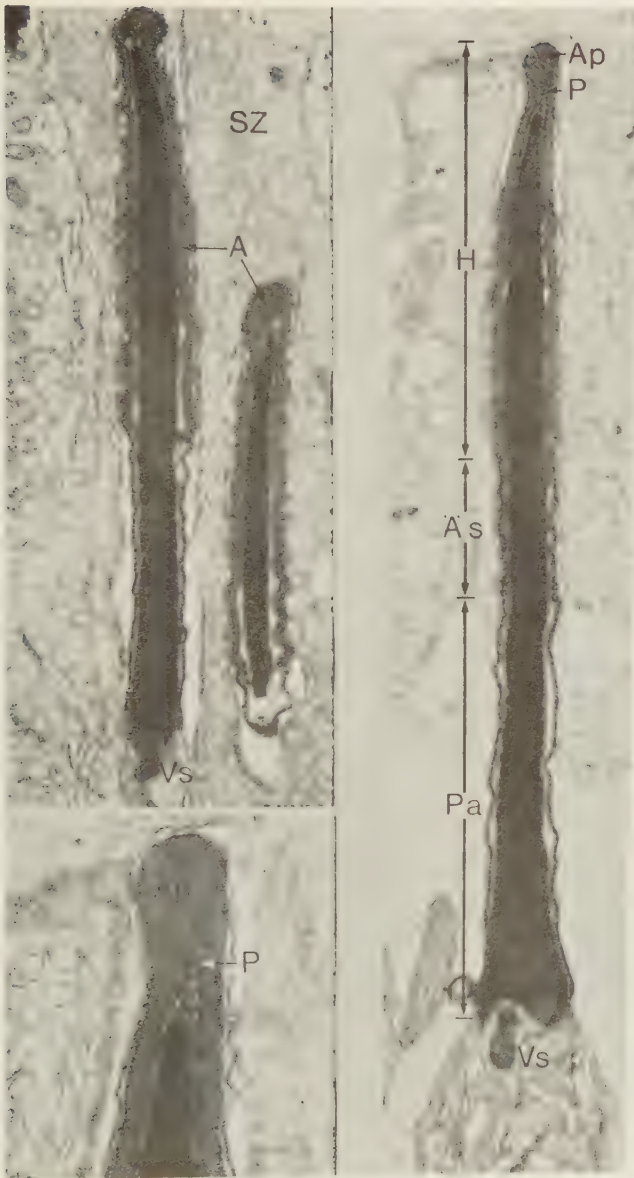


Abb.57 (l.o.): Spermatiden am Ende der Reifungs-Phase.
(x 22.500)

Abb.58 (l.u.): Apikales Ende eines Spermiums kurz vor
Verlassen des Epithelverbandes.(x 57.000)

Abb.59 (r.): Spermium kurz vor Verlassen des Epithel-
verbandes.(x 22.500)

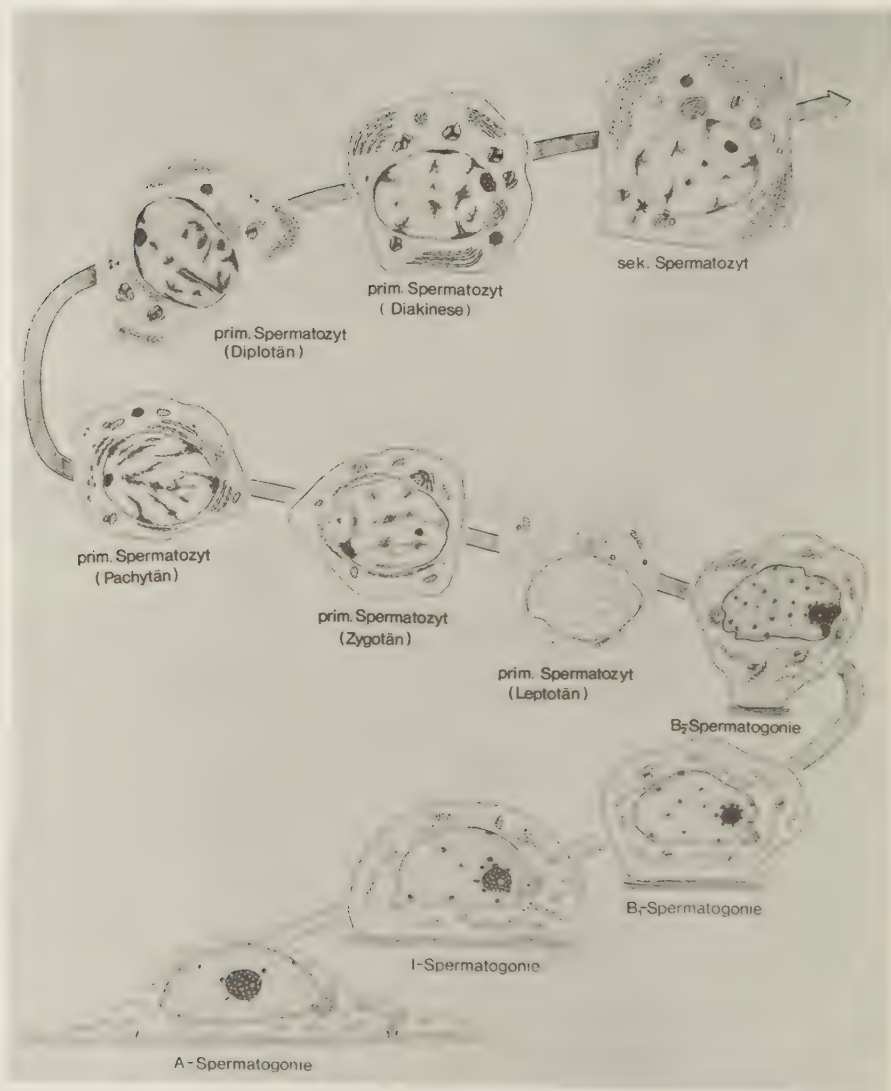


Abb.60: Halbschematische Darstellung charakteristischer Zelltypen innerhalb der Spermatogenese des Rindes. (ca. x 3.000)



Abb.61: Halbschematische Darstellung charakteristischer Entwicklungsstadien innerhalb der Spermatohistogenese des Rindes. (ca. x 4.200)

Es ist mir ein besonderes Anliegen, Herrn Prof.Dr.P.Walter, Vorstand des Institutes für Tieranatomie, Lehrstuhl für Histologie und Embryologie des Fachbereiches Tiermedizin der Universität München, für die Überlassung des Themas und Unterstützung bei der Durchführung meiner Arbeit zu danken.

Mein aufrichtiger Dank gilt Herrn Priv.-Doz. Dr.H.-G. Liebich für die Bedienung des Elektronenmikroskops und Anfertigung der Aufnahmen sowie für die kritische Durchsicht des Manuskripts, Frau Heimann und Frau Spitzenberger für die Hilfe im elektronenmikroskopischen Labor und Photolabor sowie allen Mitarbeitern des Institutes, die mich bei meiner Arbeit unterstützt haben.

LEBENS LAUF

=====

Ich, Klaus-Dieter Lengfelder, wurde am 26. Dezember 1950 in Stuttgart geboren als einziges Kind des Dipl.-Ing. Hans-Hugo Lengfelder und seiner Ehefrau Margarete Lengfelder, geborene Schoeninger.

Vom September 1957 bis Dezember 1958 besuchte ich die Schwind-Schule in München, danach die 19.Grundschule in Berlin. Im Oktober 1961 trat ich in das Klenze-Gymnasium in München ein, wo ich im Juni 1970 das Abitur ablegte.

Nach Ableistung eines 12-monatigen Militärdienstes begann ich im November 1971 das tiermedizinische Studium an der Universität München und bestand dort am 8. November 1976 die Tierärztliche Prüfung.

Das Thema der vorgelegten Arbeit wurde mir im Sommer 1974 gestellt. Vom 1.1.1974 bis 31.8.1975 war ich am Institut für Histologie und Embryologie der Tiere als studentische Hilfskraft beschäftigt.

